

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**MARA ELI DE MATOS**

**PRODUÇÃO DE AGUARDENTE DE BANANA POR LEVEDURAS ISOLADAS E  
SELECIONADAS PARA SÍNTESE DE COMPOSTOS VOLÁTEIS  
CARACTERÍSTICOS DO AROMA NATURAL DE BANANA**

**CURITIBA  
2015**

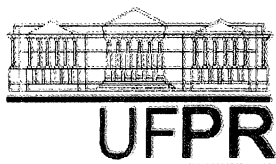
MARA ELI DE MATOS

**PRODUÇÃO DE AGUARDENTE DE BANANA POR LEVEDURAS ISOLADAS E  
SELECIONADAS PARA SÍNTESE DE COMPOSTOS VOLÁTEIS  
CARACTERÍSTICOS DO AROMA NATURAL DE BANANA**

Tese apresentada como requisito parcial para  
obtenção do grau de Doutor em Engenharia de  
Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade  
Federal do Paraná.

Orientadora: Prof. Dra. Adriane Bianchi Pedroni  
Medeiros

CURITIBA  
2015



## RELATÓRIO DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO

Aos vinte e cinco dias do mês de Setembro de 2015, no Salão Nobre do Setor de Tecnologia, prédio da Administração, do Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná, Jardim das Américas, foi instalada pelo Prof. Dr. Júlio Cesar de Carvalho coordenador do programa de Pós – Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, a banca examinadora para a Centésima Sétima Defesa de Tese de Doutorado, Área de Concentração: Biotecnologia Agroalimentar. Estiveram presentes no Ato, além do coordenador do programa, professores, alunos e visitantes.

A Banca Examinadora, atendendo determinação do Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, ficou constituída pelos Professores Doutores Luiz Gustavo Lacerda - UP/UEPG, Rosemary Hoffmann Ribani - JFPR, Júlio Cesar de Carvalho (UFPR), Gilberto Vinícius de Melo Pereira (UFPR), e Adriane Bianchi Pedroni Medeiros (UFPR – orientadora da tese).

Às 14h00, a banca iniciou os trabalhos, convidando a candidata Mara Eli de Matos, a fazer a apresentação da Tese intitulada: **“PRODUÇÃO DE AGUARDENTE DE BANANA POR DIFERENTES LEVEDURAS: SÍNTESE DE COMPOSTOS VOLÁTEIS CARACTERÍSTICOS DO AROMA NATURAL DE BANANA”**. Encerrada a apresentação, iniciou-se a fase de arguição pelos membros participantes.

Tendo em vista a tese e a arguição, a banca composta pelos professores doutores Adriane Bianchi Pedroni Medeiros, Luiz Gustavo Lacerda, Rosemary Hoffmann Ribani, Júlio Cesar de Carvalho e Gilberto Vinícius de Melo Pereira, declarou a candidata APROVADA (de acordo com a determinação dos Artigos 59 a 68 da resolução 65/09 de 30.10.09).

Curitiba, 25 de Setembro de 2015.

Prof.ª Dr.ª Adriane Bianchi Pedroni Medeiros

Prof.ª Dr.ª Rosemary Hoffmann Ribani

Prof. Dr. Luiz Gustavo Lacerda

Prof. Dr. Júlio Cesar de Carvalho

Prof. Dr. Gilberto Vinícius de Melo Pereira

Dedico:  
À minha mãe Benedita.  
Meu pai Edivino (*in memoriam*).  
Meus irmãos Zélia, Rita, Stella e Francisco.  
Minha filha Renata.  
Aos meus sobrinhos: Victor Hugo, Anahiê, Luísa, Bianca e Daniel.  
E ao Cezar.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus e a Nossa Senhora Aparecida, por sempre me manterem equilibrada espiritualmente, principalmente nos momentos difíceis.

A Prof. Dra. Adriane Bianchi Pedroni Medeiros, pela orientação, pela amizade, pelo apoio na realização dessa tese de doutorado.

Ao Prof. Dr. Carlos Ricardo Soccol pelo convite e oportunidade de cursar o doutorado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Federal do Paraná. Obrigada.

Aos professores do Curso que ministraram as aulas: Adenise Lorenci Woiciechowski, Adriane Bianchi Pedroni Medeiros, Carlos Ricardo Soccol, Júlio César de Carvalho, Luciana Porto de Souza Vandenberghe, Maria Eugênia Rabello Duarte, Michelle Spier, Miguel Daniel Nosedá, Paulo Sérgio Fontoura, Vanete Thomaz Soccol.

Aos estagiários Guilherme Pereira e Mayara Reichert pela colaboração no laboratório. Ao Ricardo pela colaboração no Lab. Biomol.

Ao Vinicius Souza Marques pela colaboração nas ilustrações.

As grandes amigas: Michelle Tanoue, Mityo e Maria Rosa, muito obrigada por tudo. Ao Mário ('filho'), Suzan e Marcio amigos e companheiros de orientação.

Ao legado de amigos e colegas que me acompanharam nessa jornada: Sidney, Denise, Valesca, Juliana, Fernanda, Gerardo, Alejandra, Marcelo, Rodrigo, Ryu, Keli, André Melo, Evaldo, Jefferson, Francieli, Gilberto, Joana, Tiemi, Elisa, Giselli, Tania, Letty, Cristine, Otacílio.

As amigas de sempre: Denise, Marlene, Marita, Mariliz, Ivonete, Nelice, Andrea.

Ao CNPq.

“Tudo posso naquele que me fortalece”.  
(Filipenses 4.13)

“Por isso não temas, porque estou contigo; não te assustes, porque sou o teu Deus; Eu te fortaleço, ajudo e sustento com a mão direita da minha justiça”.

(Isaías 41:10)

## RESUMO

A banana é uma fruta tropical cultivada nas regiões quentes do mundo, produzida praticamente durante o ano todo. A banana é um importante componente alimentar e econômico em diversos países devido a seu gosto doce e sua fácil disponibilidade. A aguardente de fruta ou *brandy* de fruta é a bebida alcoólica de 36% a 54% de álcool em volume, a 20°C, obtida do destilado de mosto fermentado de fruta. O objetivo deste trabalho foi produzir aguardente de banana a partir de refugo de produtores e/ou descarte de comerciantes de feiras (grau de maturação 4, 5, 6 e 7) com a biossíntese de compostos do aroma natural de banana. Foram utilizadas leveduras disponíveis no LPB/UFPR (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*, *Candida tropicalis*, *Kluyveromyces marxianus*), leveduras isoladas e identificadas da banana (*Pichia* sp. e *Hanseniaspora* sp.) e uma levedura comercial. Com essas leveduras foram produzidas quinze diferentes aguardentes de banana: fermentação em mosto de banana com casca; em mosto de banana sem casca; em mosto da casca de banana; e produção de aguardente com o reaproveitamento da vinhaça. Os voláteis detectados foram identificados e quantificados por cromatografia gasosa a partir da análise do *headspace*. Nas aguardentes de banana foram identificados - alcoóis: metanol, etanol, álcool-n-propílico, 2-metil-1-propanol, n-butanol, 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico), 1-pentanol, 2-hexanol, 1-hexanol, 1-decanol; - aldeído: etanal (acetaldeído); - cetonas: 2,3-butanodiona, 2 – pentanona, e 2-octanona. - ácidos carboxílicos: ácido acético e o ácido caprílico. - ésteres: acetato de etila, acetato de propila, acetato de isobutila, acetato de isoamila, hexanoato de etila e octanoato de etila. A aguardente de banana produzida com mosto com casca de banana e levedura *Pichia* sp. apresentou maior número de compostos aromáticos característicos de banana. Comparou-se a aguardente de banana produzida com oito marcas de bebidas alcoólicas (adquiridas no comércio local) cujos rótulos citavam banana em sua composição. Constatou-se que a aguardente de banana produzida é superior em aromas em termos de quantidades de compostos de aromas e suas concentrações. A avaliação sensorial de uma aguardente produzida obteve índice de aceitabilidade de 97,43%.

**PALAVRAS-CHAVE:** Aguardente. Aroma. Bebida alcoólica. Acetato de isoamila. *Pichia* sp. *Hanseniaspora* sp. *Saccharomyces boulardii*. *Candida tropicalis*. *Kluyveromyces marxianus*. *Saccharomyces cerevisiae*.

## ABSTRACT

Banana is a tropical fruit cultivated in warm regions of the world, available throughout almost all the year. Bananas are important alimentary and economical components of several countries due to its sweet taste and great availability. The fruit spirit or brandy is an alcoholic beverage with 36-54% (v) alcohol range at 20°C, obtained by banana fermented must. The aim of this research was to produce banana brandy from banana (maturation stage 4, 5, 6 and 7) discarded from markets and fairs with natural banana aroma biosynthesis through yeasts from the LPB/UFPR culture collection (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*, *Candida tropicalis*, *Kluyveromyces marxianus*), by isolated and identified yeasts from banana fermentation (*Pichia* sp. e, *Hanseniaspora* sp.) and by commercial yeast CA-11. With these yeasts, fifteen different banana brandies were produced after fermentation: banana must with peel; banana must without peel; banana peel must; and also, the production of brandy with vinasse reuse. Volatiles produced were identified and quantified by gas chromatography by headspace analysis. In banana brandies were identified - alcohols: methanol; ethanol; n-isopropyl; 2-methyl-1-propanol; n-butanol; 3-methyl-1-butanol (isoamyl alcohol); 1-pentanol; 2-hexanol; 1-hexanol; 1-decanol, aldehydes: ethanal (acetaldehyde) - ketones: 2,3-butanedione; 2-pentanone; 2-octanone – carboxylic acids: acetic acid; caprylic acid - esters: ethyl acetate, propyl acetate; isobutyl acetate, isoamyl acetate, ethyl hexanoate and ethyl octanoate. The banana brandy produced with must of bananas peels and *Pichia* sp. showed more banana aromatic compounds types. A comparison was established between the produced brandy and 8 different commercial brandies (commerce acquired) which labels cited banana on their composition. It was found that the produced brandy was superior in number aroma compounds and their concentration amounts. A sensory evaluation of the produced brandy (distilled from wine from two different yeasts) was held to open public with an alcohol content of 40 °GL at 20 °C. The samples were distributed to volunteers without the mention of the source of the raw material and with untrained public at random approach. The acceptability index (AI) for the brandy produced banana was 97.43%.

**KEYWORDS:** Brandy. Aroma. Alcoholic beverage. Isoamylacetate. *Pichia* sp. *Hanseniaspora* sp. *Saccharomyces boulardii*. *Candida tropicalis*. *Kluyveromyces marxianus*. *Saccharomyces cerevisiae*.



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1:	Bananeira e suas partes .....	6
FIGURA 2:	Bananal .....	10
FIGURA 3:	Graus de coloração da casca na maturação da banana .....	22
FIGURA 4:	Pré-seleção das bananas .....	59
FIGURA 5:	Bananas selecionadas para descascar .....	59
FIGURA 6:	Pré-tratamento do mosto .....	59
FIGURA 7:	Aspecto do mosto após resfriamento .....	60
FIGURA 8:	Fermentado do mosto de banana .....	62
FIGURA 9:	Filtração do mosto de banana .....	62
FIGURA 10:	Filtrado do mosto de banana .....	62
FIGURA 11:	Torta de leveduras .....	62
FIGURA 12:	Fluxograma da produção de etanol a partir de banana com casca com tratamento enzimático .....	64
FIGURA 13:	Fluxograma da produção da aguardente de banana com casca .....	65
FIGURA 14:	Fluxograma da produção da aguardente de banana sem casca .....	66
FIGURA 15:	Fluxograma da produção da aguardente de banana uso da casca de banana .....	67
FIGURA 16:	Fluxograma da produção da aguardente de banana com casca e reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto .....	68
FIGURA 17:	Fluxograma da produção da aguardente de banana com casca e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração .....	69
FIGURA 18:	Fluxograma da produção da aguardente de banana sem casca e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração .....	70
FIGURA 19:	Fluxograma da produção da aguardente de banana, fermentado e filtrado de banana com casca e banana sem casca – fermentação com duas diferentes leveduras .....	71
FIGURA 20:	Rotaevaporador .....	72
FIGURA 21:	Alambique de Femel com frasco de Erlenmeyer e chapa de aquecimento, no primeiro plano, e Alambique de Femel com balão de fundo redondo e manta de aquecimento.....	73
FIGURA 22:	Ambiente preparado para avaliação sensorial .....	80

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1:	Comparação dos compostos voláteis (aromas) detectados no <i>headspace</i> da banana com e sem casca e somente da casca. (Concentração em mg/L de <i>headspace</i> ).....	86
GRÁFICO 2:	Compostos voláteis identificados no <i>headspace</i> da aguardente de banana em mosto banana com casca, fermentado por <i>Pichia sp.</i> Concentrações em mg/L de <i>headspace</i> .....	101
GRÁFICO 3:	Compostos voláteis identificados no <i>headspace</i> da aguardente de banana em mosto banana sem casca, fermentado por CA-11. Concentrações em mg/L de <i>headspace</i> .....	102
GRÁFICO 4:	Compostos voláteis identificados no <i>headspace</i> da aguardente de banana em mosto com a casca de banana, fermentado por <i>Pichia sp.</i> Concentrações em mg/L de <i>headspace</i> .....	103
GRÁFICO 5:	Compostos voláteis identificados no <i>headspace</i> da aguardente da banana com casca e levedura <i>Pichia sp.</i> e banana sem casca, levedura CA-11, com reaproveitamento da vinhaça A e vinhaça A+CA-11 compondo o mosto. Concentrações em mg/L de <i>headspace</i> .....	104
GRÁFICO 6:	Compostos voláteis identificados no <i>headspace</i> da aguardente de banana com casca, fermentado com a levedura <i>Pichia sp.</i> e reaproveitamento de vinhaça. Concentrações em mg/L de <i>headspace</i> .....	105
GRÁFICO 7:	Compostos voláteis identificados no <i>headspace</i> da aguardente de banana sem casca, fermentada com a levedura comercial CA-11 com reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado. Concentrações em mg/L de <i>headspace</i> .....	106
GRÁFICO 8:	Compostos voláteis identificados no <i>headspace</i> da aguardente de banana, obtida com o fermentado e o filtrado de banana com casca e banana sem casca – vinho proveniente de duas diferentes leveduras. Concentrações em mg/L.....	107
GRÁFICO 9:	Compostos voláteis identificados no <i>headspace</i> da aguardente de banana com casca fermentado por <i>Hanseniaspora sp.</i> Concentrações em mg/L de <i>headspace</i> .....	108
GRÁFICO 10:	Compostos voláteis identificados no <i>headspace</i> da aguardente de banana sem casca, fermentado por <i>S. cerevisiae</i> . Concentrações em mg/L de <i>headspace</i> .....	109
GRÁFICO 11:	Compostos voláteis identificados no <i>headspace</i> da aguardente de banana com casca, fermentado por <i>S. boulardii</i> . Concentrações em mg/L de <i>headspace</i> .....	110
GRÁFICO 12:	Compostos voláteis identificados no <i>headspace</i> da aguardente de banana com casca, fermentado por <i>C. tropicalis</i> . Concentrações em mg/L de <i>headspace</i> .....	110
GRÁFICO 13:	Compostos voláteis identificados no <i>headspace</i> da aguardente de banana com casca, fermentado por <i>K. marxianus</i> . Concentrações em mg/L de <i>headspace</i> .....	111
GRÁFICO 14:	Comparação do teor alcoólico em °GL (g/100mL) e a concentração de etanol (mg/L) detectada no <i>headspace</i> da aguardente de banana AB-1 e bebidas comerciais.....	120
GRÁFICO 15:	Concentração de acetato de isoamila identificada no <i>headspace</i> das aguardentes de banana produzida em comparação com as comerciais. Concentrações em mg/L de <i>headspace</i> .....	121

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1:	10 países maiores produtores mundiais de banana. ....	13
QUADRO 2:	Cultivar, características físicas e sabor de bananas .....	17
QUADRO 3:	Graus de maturação da banana .....	21
QUADRO 4:	Teores de amido e açúcares totais relacionados com o grau de coloração da banana. ....	22
QUADRO 5:	Composição da polpa da banana nanica ( <i>Musa cavendishii</i> ) com diferentes graus de coloração da casca. ....	22
QUADRO 6:	Características físico-químicas, segundo critérios de maturação da banana nanica. ....	23
QUADRO 7:	Composição de alguns cultivares de banana (por 100 g de polpa). ....	23
QUADRO 8:	Perfil de açúcares e sólidos em diferentes variedades de banana .....	24
QUADRO 9:	Média das concentrações dos compostos químicos (mg/100 mL de álcool anidro <sup>-1</sup> analisados por cromatografia gasosa na aguardente de banana, produzida a partir de três fermentações sucessivas. ....	27
QUADRO 10:	Exemplos de aguardentes de frutas e outras matérias-primas..	29
QUADRO 11:	Algumas classes de compostos voláteis e seus respectivos aromas.....	46
QUADRO 12	Relação das leveduras produtoras de etanol provenientes do banco de cepas do LPB/UFPR .....	54
QUADRO 13:	Denominações (AB = Aguardente de Banana) e características do mosto de banana com a levedura utilizada na fermentação.....	96
QUADRO 14:	Classes de compostos voláteis detectados nas aguardentes de banana produzidas e seus respectivos aromas.....	99

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1:	Concentrações das enzimas Amylase e Ultrazym utilizadas.....	63
TABELA 2:	Tempo de retenção dos Compostos Voláteis (aromas) e características de odor. ....	75
TABELA 3:	Características e procedências das bebidas alcoólicas de banana adquiridas no comércio. ....	79
TABELA 4:	CA-11 testada em mosto de banana com e sem casca .....	81
TABELA 5:	Identificação e sequenciamento das leveduras isoladas pela empresa ACTGene Análises Moleculares Ltda .....	83
TABELA 6:	Confirmação da levedura 'A' como <i>Pichia</i> sp. pela produção do acetato de isoamila comparando-se com a <i>Pichia fermentans</i> ITD00165 em mosto de banana a 28°C durante 24 horas (mg/L).....	83
TABELA 7:	Composição físico-química da banana com casca .....	84
TABELA 8:	Teor de açúcares redutores no mosto utilizado para produção de aguardente. ....	85
TABELA 9:	Tratamento térmico do mosto banana com e sem casca em relação ao desenvolvimento de microrganismos .....	87
TABELA 10:	Influência do tempo na produção do etanol e acetato de isoamila.	89
TABELA 11:	Resultados da produção de etanol e acetato de isoamila (mg/L de <i>headspace</i> ) em mosto de banana nas temperaturas de 20 e 28°C em 24 horas .....	90
TABELA 12:	Comparação da produção do etanol e acetato de isoamila (mg/L de <i>headspace</i> ) em mosto de banana com e sem casca .....	92
TABELA 13:	Resultados da produção de etanol e acetato de isoamila com tratamento enzimático.....	95
TABELA 14:	Comparação dos compostos voláteis identificados no <i>headspace</i> das 15 aguardentes de banana produzidas. Concentrações em mg/L de <i>headspace</i> .....	97
TABELA 15:	Resultado da acidez total titulável das aguardentes produzidas	112
TABELA 16:	Rendimentos do etanol nas aguardentes de banana.....	113
TABELA 17:	Rendimentos do acetato de isoamila nas aguardentes de banana.	117
TABELA 18:	Comparação dos compostos voláteis identificados no <i>headspace</i> da aguardente de banana produzida AB-1 em relação às bebidas alcoólicas adquiridas no comércio. Concentrações em mg/L.....	119
TABELA 19:	Resultados dos atributos avaliados sensorialmente.....	122
TABELA 20:	Identificação dos aromas na avaliação sensorial.....	123

## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

-	Ausência
+	Presença
a.a.	álcool anidro
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACP	Análise de Componentes Principais
AGEITEC	Agência Embrapa de Informação Tecnológica.
ANOVA	Análise de Variância Univariada
Apex	Agência de Promoção de Exportações e Investimentos
ASTM	American Society for Testing and Materials.
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
CEASA	Central de Abastecimento
CEPA	Centro de Socio-economia e Planejamento Agrícola/SC
CG/EM	Cromatografia a Gás e Espectrometria de Massa
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias
FAO	Food and Agricultural Organization
FAOSTAT	Food and Agriculture Organization of the United Nations.
FRUPEX	Programa de Apoio a Produção e Exportação Frutícola
FTA	<i>Food and Drug Administration</i>
I. A.	Índice de Aceitabilidade
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBRAF	Instituto Brasileiro de Frutas
ICB/	Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas
UFMG	Gerais
IFT	<i>Institute Food Technology</i>
LPB/UFPR	Laboratório de Processos Biotecnológicos da UFPR
MPBM	Massa da Polpa da Banana Madura
NBR	Norma Brasileira
nd	não detectado
OAV	<i>Odour Activity Value</i>
PBDAC	Programa Brasileiro de Desenvolvimento da Aguardente de Cana, Caninha ou Cachaça
PIF	Produção Integrada de Frutas
RBC	<i>Rose Bengal Cloranfenicol</i>
S.S.	Sólidos Solúveis
S.T.	Sólidos Totais
SEBRAE	Serviço de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
TNT	Tecido Não Tecido

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1.1 OBJETIVOS	3
1.1.1 Objetivo Geral	3
1.1.2 Objetivos Específicos	3
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>4</b>
2.1 BANANA	4
2.1.1 Histórico	4
2.1.2 Bananeira	6
2.1.3 Aspectos sócio-econômicos	12
2.1.4 Variedades e características	16
2.1.5 Produtos derivados da banana	18
2.1.6 Composição da banana	21
2.1.7 Voláteis da banana	24
2.2 AGUARDENTES	26
2.3 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA	35
2.3.1 Inóculo	37
2.3.1.1 Leveduras	38
2.4 DESTILAÇÃO	40
2.5 AROMA	43
2.5.1 Definições e histórico	43
2.5.2 Análise de aromas	49
2.6 AVALIAÇÃO SENSORIAL	50
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>54</b>
3.1 MICRORGANISMOS	54
3.1.1 Leveduras do LPB/UFPR	54
3.1.2 Levedura Comercial	55
3.1.3 Leveduras isoladas da banana	55
3.1.3.1 Identificação das leveduras selecionadas	55
3.1.3.1.1 Extração de DNA	56
3.1.3.1.2 Amplificação das regiões ITS 4 e ITS 5 rDNA	56
3.1.3.1.3 Purificação de DNA para reação de sequenciamento	57
3.1.3.1.4 Sequenciamento de DNA	57
3.2 PREPARO DO INÓCULO	58
3.3 PREPARO DO MOSTO DE BANANA	58
3.4 SELEÇÃO DE LEVEDURAS	60
3.4.1 Teste de Fermentação em caldo de cana	60
3.4.2 Teste de Fermentação em mosto de banana	61
3.5 PRODUÇÃO DE AGUARDENTE	61
3.6 TRATAMENTO ENZIMÁTICO DO MOSTO	62
3.6.1 Determinação da quantidade das enzimas	63
3.6.2 Avaliação da influência da agitação na atividade enzimática	63
3.6.3 Avaliação da atividade enzimática na produção do etanol e acetato de isoamila	63
3.7 PRODUÇÃO DAS AGUARDENTES DE BANANA	64
3.7.1 Produção da aguardente de banana com casca	65
3.7.2 Produção da aguardente de banana sem casca	66
3.7.3 Produção da aguardente com a casca da banana	67

3.7.4 Produção da aguardente de banana com casca com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto .....	68
3.7.5 Produção da aguardente de banana com casca e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado .....	69
3.7.6 Produção da aguardente de banana sem casca e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração .....	70
3.7.7 Produção da aguardente de banana, fermentado e filtrado de banana com casca e banana sem casca – vinho proveniente de duas diferentes leveduras .....	71
3.8 DESTILAÇÃO .....	72
3.9 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DA BANANA .....	73
3.10 DETERMINAÇÃO DOS VOLÁTEIS – ANÁLISE DO HEADSPACE .....	74
3.11 DETERMINAÇÃO DOS AÇÚCARES REDUTORES .....	76
3.12 DETERMINAÇÃO DO GRAU ALCÓOLICO .....	76
3.13 DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL DAS AGUARDENTES DE BANANA PRODUZIDAS .....	76
3.14 RENDIMENTOS NA PRODUÇÃO DE AGUARDENTES DE BANANA ....	77
3.14.1 Rendimentos do etanol .....	77
3.14.2 Rendimentos do acetato de isoamila .....	78
3.15 AGUARDENTE DE BANANA PRODUZIDA COMPARADA COM AS BEBIDAS ALCÓOLICAS DE BANANA COMERCIAIS .....	78
3.16 ANÁLISE SENSORIAL DA AGUARDENTE DE BANANA PRODUZIDA....	79
3.16.1 Teste de Aceitabilidade .....	80
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	81
4.1 SELEÇÃO DE LEVEDURAS .....	81
4.1.1 Fermentação em caldo de cana.....	81
4.1.2 Isolamento de leveduras da banana .....	82
4.1.2.1 Identificação e sequenciamento genético das leveduras selecionadas...	82
4.2 COMPOSIÇÃO DA BANANA .....	84
4.2.1 Composição físico-química .....	84
4.2.2 Açúcares Redutores .....	84
4.2.3 Compostos voláteis da banana .....	85
4.3 PRÉ-TRATAMENTO TÉRMICO DO MOSTO DE BANANA .....	87
4.3 FERMENTAÇÃO EM MOSTO DE BANANA .....	88
4.3.1 Estudo da influência do tempo na produção do etanol e acetato de isoamila .....	88
4.3.2 Estudo da influência da temperatura na produção do etanol e acetato de isoamila .....	89
4.3.3 Estudo da influência da casca de banana na produção do etanol e acetato de isoamila .....	91
4.4 TRATAMENTO ENZIMÁTICO .....	93
4.4.1 Determinação da quantidade das enzimas .....	93
4.4.2 Avaliação da influência da agitação na atividade enzimática .....	94
4.4.3 Avaliação da atividade enzimática na produção do etanol e acetato de isoamila .....	94
4.5 PRODUÇÃO DA AGUARDENTE .....	96
4.5.1 Produção da aguardente de banana com casca ( <i>Pichia</i> sp.) .....	101
4.5.2 Produção da aguardente de banana sem casca (CA-11) .....	102

4.5.3 Produção da aguardente de banana somente com a casca da banana ( <i>Pichia</i> sp.) .....	103
4.5.4 Produção da aguardente de banana com casca com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto .....	103
4.5.5 Produção da aguardente de banana com casca ( <i>Pichia</i> sp.) e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração .....	105
4.5.6 Produção da aguardente de banana sem casca (CA11) e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração .....	106
4.5.7 Produção da aguardente de banana, fermentado e filtrado de banana com casca e banana sem casca – vinho proveniente de duas diferentes leveduras .....	107
4.5.8 Aguardente de banana com casca - <i>Hanseniaspora</i> sp.....	108
4.5.9 Aguardente de banana com casca - <i>S. cerevisiae</i> .....	108
4.5.10 Aguardente de banana com casca - <i>S. boulardii</i> .....	109
4.5.11 Aguardente de banana com casca – <i>Candida tropicalis</i> .....	110
4.5.12 Aguardente de banana com casca – <i>Kluyveromyces marcianus</i> .....	111
4.6 ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL DAS AGUARDENTES DE BANANA PRODUZIDAS .....	111
4.7 RENDIMENTOS NA PRODUÇÃO DE AGUARDENTES DE BANANA .....	112
4.7.1 Rendimento do etanol nas aguardentes de banana produzidas .....	112
4.7.2 Rendimento do acetato de isoamila nas aguardentes de banana produzidas .....	116
4.8 COMPARAÇÃO DA AGUARDENTE DE BANANA PRODUZIDA COM AS BEBIDAS ALCOÓLICAS DE BANANA COMERCIAIS.....	118
4.9 ANÁLISE SENSORIAL DA AGUARDENTE DE BANANA PRODUZIDA ....	121
5 CONCLUSÕES .....	125
6 SUGESTÕES PARA CONTINUAÇÃO DA PESQUISA .....	127
REFERÊNCIAS .....	128
ANEXO 1.....	144
ANEXO 2.....	157



## 1 INTRODUÇÃO

A aceitação, consumo e consolidação de uma bebida alcoólica fermentada e/ou destilada, no mercado, estão diretamente relacionados ao seu sabor. O sabor, por sua vez, é a resposta integrada ao gosto e ao aroma, dada pela presença de numerosos compostos voláteis.

Em bebidas alcoólicas alguns desses compostos têm origem no próprio fruto, outros são gerados durante o processo fermentativo e outros são provenientes de reações químicas durante o envelhecimento. (GARRUTI, 2001). Produtos alimentícios e especialmente bebidas alcoólicas, como o vinho e cerveja, contêm grande número de compostos voláteis. No aroma existem compostos de impacto e compostos contribuintes, mas são os de impacto que irão ditar a maior porcentagem de compostos que perfazem o aroma característico do alimento. (GARRUTI, 2003). Em aguardente de frutas, dentre muitos compostos responsáveis pelo aroma, encontram-se os ésteres. No caso da aguardente de banana, o aroma característico apresentado durante a fermentação deve-se, primeiramente, ao éster acetato de isoamila. (LILLY *et al.*, 2000).

A indústria utiliza aromas artificiais em diversos produtos alimentícios e bebidas. Na produção de sucos faz-se uso de essências artificiais. Aguardente (*brandy*) de banana é da mesma forma, passivo de falsificação por meio de essências. (LIMA e MELO FILHO, 2011). Bebidas alcoólicas de banana comercialmente utilizam a cachaça (de caldo-de-cana) com essência artificial de banana ou a cachaça macerada com banana passa. A análise dessas bebidas motivou o estudo e pesquisa na obtenção de aromas naturais frutais na produção da aguardente de banana, desenvolvendo um produto de qualidade e que correspondesse à legislação.

Como hipótese formulada elaborou-se o seguinte: se for utilizada banana de baixo custo ou sem custos e cepa (s) selecionada (s) para o processo de fermentação então se produzirá aguardente de banana com aroma natural e de boa qualidade.

O consumo de aguardente de frutas é difundido internacionalmente. Para o Brasil, a produção de aguardente de banana é uma perspectiva promissora, que

ainda depende de aporte tecnológico para assegurar a qualidade do produto e segurança dos consumidores.

Para a produção da aguardente de banana com aromas naturais foi necessário ir à busca da matéria-prima (banana) de custo baixo ou sem custo, de cepas que produzissem etanol e biossintetizassem os aromas característicos de banana no processo de fermentação. Essa banana de custo zero é encontrada como descarte em feiras de comércio e, pelo próprio produtor que não consegue escoar a safra com perdas e prejuízos financeiros inevitáveis. Quanto às leveduras, existem diversas no comércio, porém deve-se estudar a que melhor se adapte a matéria-prima para obter um produto de qualidade.

As perdas de banana ao longo da cadeia produtiva são significativas, por isso ainda distante de índices aceitáveis. Para a EMBRAPA (2014) a falta de cuidados na fase de comercialização é responsável por aproximadamente 40% de perdas do total de banana produzida no Brasil. Essas perdas estão assim distribuídas: na lavoura (mais de 5%); no processo de embalagem (mais de 2%); no atacado (6 a 10%); no varejo (10 a 15%); e, no consumidor (5 a 8%). Esse alto índice de perdas poderia ser mais bem aproveitado na fabricação de diversos produtos, dentre estes, a aguardente de banana.

No Brasil, a utilização da banana como matéria-prima para a produção de aguardente é uma opção que pode contribuir para reduzir as perdas da fruta e aumentar a renda dos produtores. As aguardentes de banana e outras frutas podem ser produzidas na entressafra da cana, nessas mesmas instalações, aproveitando parte das estruturas e tecnologia produtivas já existentes.

Além disso, a bebida tem boas chances de conquistar o mercado nacional e internacional, aproveitando o interesse crescente pelos destilados brasileiros no Brasil e em vários países, especialmente pela cachaça.

Apesar da importância econômica e social da aguardente brasileira, no que concerne a tecnologia de produção da aguardente de banana, existem poucos trabalhos científicos disponíveis. (SILVA, 2004). Porém, as crescentes exigências do mercado têm estimulado mais estudos sobre a qualidade das bebidas destiladas.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho foi produzir aguardente de banana contendo aroma natural da banana e compostos biossintetizados por leveduras a partir de refugo de produtores e/ou descarte de comerciantes de feiras (grau de maturação 4, 5, 6 e 7).

### 1.1.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos foram:

- Testar diferentes leveduras para produção do bioaroma característico de banana relacionando-as com uma aguardente de qualidade;
- isolar leveduras naturalmente presentes na banana para produção de etanol e aromas;
- identificar as cepas isoladas e caracterizá-las;
- estabelecer um bioprocesso produtivo reaproveitando bananas descartadas;
- caracterizar físico- quimicamente a composição da banana;
- obter, pela fermentação, aguardente compatível com legislação vigente;
- comparar o aroma da aguardente de banana produzida, sob condições controladas, com as bebidas alcoólicas de banana disponíveis comercialmente;
- reaproveitar a vinhaça gerada na produção da aguardente de banana na composição do mosto e diluição do fermentado;
- propor bioprocessos para produção da aguardente de banana;
- avaliar sensorialmente a aceitabilidade da aguardente de banana produzida.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 BANANA

#### 2.1.1 Histórico

A banana é classificada como pertencente ao gênero *Musa*, dentro da classe das monocotiledôneas. A origem do termo *Musa*, criado pelo botânico Carl Von Linné, não é muito clara, podendo ser uma derivação da palavra árabe *Mouz*, ou então uma homenagem prestada ao médico do imperador romano Augusto, que se chamava Antonio Musa. Conforme Grigson, o botânico (1999, p.77): “(...) tirou *musa* da palavra árabe *Mouz*, banana, derivada do sânscrito *moka*.”

Há muitos registros que afirmam a relação da banana como sendo a “fruta proibida”, da passagem bíblica da criação do mundo, no livro das frutas escrito por Grigson (1999, p.78), que cita

Os sábios da Índia - *sapientes indorum* - delas se alimentavam: “a folha é como a asa dos pássaros [...] A fruta cresce diretamente do tronco e é deliciosa por sua doçura. *Paradisiaca* é outra referência aos árabes, que afirmavam ser a bananeira a Árvore do Paraíso, ou seja, a Árvore do Conhecimento do Bem e do Mal. Mais confusão aqui, porque os europeus - incluindo Plínio - no início chamavam a banana de figo: *figue d’Adam*, *figue Du Paradis*, para os franceses, antes que eles adotassem o termo *banane*, *fico d’Adamo* na Itália, assim como a pêra espinhosa é chamada *figue de Barbarie* e *fico d’Índia*.”

Dentro da classe das monocotiledôneas, o gênero *Musa* faz parte da família Musáceas, da qual fazem partes inúmeras outras plantas de características semelhantes à banana, muitas das quais originadas e nativas de diversas regiões do continente latino-americano.

O nome “banana”, quase universal, é atribuído aos comerciantes árabes, como o fruto era, na altura, muito pequeno, diferente do que conhecemos atualmente, chamaram-no de *banan*, que significava “dedo” em árabe. O fruto foi conhecido como *bana*, *gana* e até *funana* até ser estabelecido o nome final.

Em outros idiomas é conhecida por outros nomes como a exemplo do: Alemão: *bananon*; Árabe: *banáná*; Coreano: *banané*; Eslovaco: *banauin*; Esloveno: *banau*; Espanhol: *plátano*; Esperanto: *tadada*; Frances: *banane*; Gaélico: *gagaiana*;

Grego: *moço jovem*; Icelandico: *bana*; Albania, armênio; Búlgaro: cambojano; Croata, Dinamarquês, Holandês, Estoniano, Filipino, Georgiano, Havaiano, Hebreu, Hopi, Húngaro, Indiano: banana.

Grigson, o botânico (1999, p.77): A fruta já vem sendo citada e estudada há muitos anos, no livro *A História da Alimentação no Brasil*, Luiz Câmara Cascudo dedica um capítulo inteiro para esta iguaria, afirmando a importância dela na história, cultura e economia brasileira (1898, p.132 *apud* SCHMIDT, 1934, p.9):

A banana tem outra utilidade, no plano técnico. É um elemento indicador do grau de segregação dos grupos indígenas. Sua falta denuncia o isolamento para com os demais habitantes da região. E mesmo afirma a solidão humana em área imprevisível porque seria a banana inevitavelmente propagada se fosse cultivada, mesmo distantemente.

Constata-se que a banana chegou ao Brasil nos primeiros anos da colonização e se espalhou por todo o território.

O trampolim africano foi útil para que a banana viesse a cruzar o Oceano Atlântico e migrar para as Américas nas variedades que aqui não existiam. Essas variedades que não são típicas do Brasil foram aclimatadas e adaptadas ao nosso território ainda durante o século XVI, a partir de matrizes trazidas de outras colônias portuguesas (tais como os arquipélagos de Cabo Verde, Madeira ou Açores).

No que se refere à sua história, os registros iniciais acerca da banana remontam a influência mulçumana sobre a gastronomia européia. No texto “A cozinha árabe e sua contribuição à cozinha européia”, de Bernard Rosenberger (1998), há uma menção à *Musa paradisiaca* como um dos produtos que passaram a fazer parte de um intercâmbio comercial e cultural entre a região do Oriente Médio, a partir da Pérsia, com a Europa, durante o século XIV.

### **2.1.2 Bananeira**

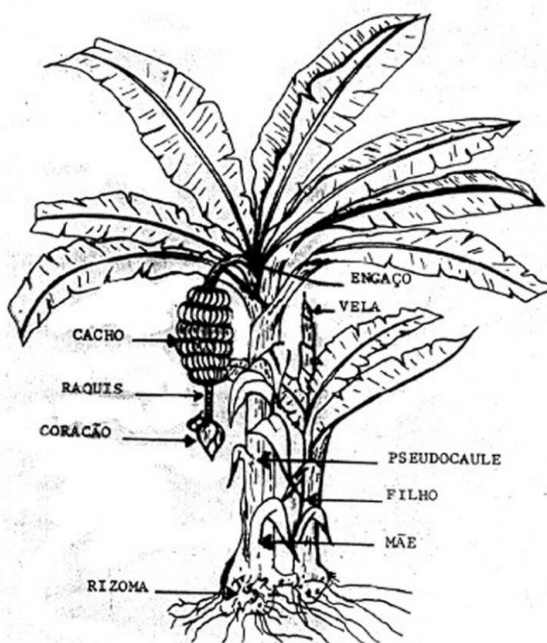
A bananeira é uma das mais antigas plantas cultivadas pelo homem e uma das mais importantes do mundo, dado o seu papel na alimentação e economia, a expressão: “República das bananas” atesta bem essa importância, fazendo referência não a um governo anárquico, mas aos pequenos países cuja economia sobrevive, quase exclusivamente à custa desse produto.

No começo do século XIX, os viajantes europeus que visitavam as regiões do mar das Antilhas relatavam que os indígenas conheciam muitas maneiras de aproveitar as diversas partes da bananeira, a planta maravilhosa. Assim é que Bernardim de St. Pierre (*apud* SCHMIDT, 1934) escreve:

A bananeira, por si só, poderia ter suprido todas as necessidades do primeiro homem. Seus frutos, reunidos como os dedos da Mão, constituem o mais agradável dos alimentos. Um só cacho representa a carga de um homem. Sua copa larga e alta constitui ótimo guarda sol, e suas folhas longas, largas e lisas, de um verde belo, proporcionam graciosos aventais. Essas folhas são muito flexíveis e fáceis de serem manejadas, quando verdes. Os indígenas fazem com elas recipientes de toda espécie, para água e alimentos. Com elas também cobrem as suas habitações; do caule depois de seco, tiram fios.

A bananeira é uma planta de caule subterrâneo (rizoma ou cormo), que se desenvolve em sentido horizontal, e do qual surgem as folhas que crescem para fora da terra, formando o falso tronco. Apenas uma vez na sua vida, cada caule falso dá um ramo de flores, que, aos poucos vai se transformando num cacho de bananas, formado por pencas que, ao todo, podem chegar a somar até duzentas bananas. Depois da maturação e colheita do cacho de bananas, o pseudocaule morre (ou é cortado) dando origem a outro pé que começa a crescer do rizoma subterrâneo, chamado de filho e dele nascerá o próximo cacho, que é ilustrada por meio da FIGURA 1.

**FIGURA 1: Bananeira e suas partes**



FONTE: PORTAL SÃO FRANCISCO. Bananeira - classificação botânica, 2014.

As pseudobagas formam-se em conjuntos (*clusters*) que se agrupam até cerca de vinte bananas em "pencas". Os cachos de bananas, pendentes na extremidade do falso caule da bananeira, ainda que as espécies selvagens apresentem numerosas sementes, grandes e duras, praticamente todas as variedades utilizadas na alimentação humana não apresentam sementes, como fruto partenocárpico.

Os portugueses foram grandes impulsionadores do cultivo dessa planta no Novo Mundo, bem como de muitas outras espécies vegetais e animais. Há documentos de época que registram alguns desses itens, como a exemplo do "Tratado da Terra do Brasil e Historia da Província de Santa Cruz", escrito por Pêro de Magalhães Gândavo (1576, *apud* SCHMIDT, 1934)

Esta planta mui tenra e não mui alta, não tem ramos senão umas folhas que serão seis ou sete palmos de comprido. A fruta dela se chama banana. Parecem-se na feição com pepinos e criam-se em cachos. (...) esta fruta mui saborosa, e das boas, que há na terra: tem uma pele de figo (ainda que mais madura) a qual lhe lançam fora quando a querem comer.

A planta e a fruta podem ser utilizadas por inteiro, aproveitando todas as partes, as folhas servem como abrigo e alimento, as fibras servem para artesanatos, o coração como alimento, a casca para farinha, doces, plásticos. Seu uso e aplicações são diversos, conforme Schmidt (1934, p.12)

Existem uns cem números de usos e aplicações, industriais ou não, de produtos e subprodutos da bananeira. Em toda face da terra ela tem servido para a alimentação, não só dos homens, como dos animais. Assim é que os egípcios dão os seus frutos aos carneiros e as vacas. Com as fibras fazem tecidos e cordagem. Os filipinos e os habitantes das Índias Orientais cobrem as cabanas, vestem-se e fazem esteiras para dormir. Na Jamaica é extraída a fibra em grande escala, de variedade *paradisíaca*, por ser a de maior rendimento o qual chega a ser de 15% em peso, para a fabricação de cordas, telas e papel.

A bananeira é uma planta tipicamente tropical, exigindo calor constante, chuvas bem distribuídas e elevada umidade relativa para seu desenvolvimento, encontrado em todo território nacional.

Os fatores climáticos afetam direta ou indiretamente as zonas produtoras, uma vez que seus principais componentes são temperatura, precipitação, umidade relativa e luminosidade que permitem o estabelecimento e desenvolvimento do cultivo, bem como favorecem a incidência ou a severidade do ataque de uma determinada doença ou praga. (SILVA *et al.*, 1999)

As bananeiras devem ser cultivadas em áreas de temperaturas entre 15 °C a 35° C que são limites para o bom desenvolvimento da planta, as baixas temperaturas aumentam o ciclo de produção, mas por outro lado, prejudicam os tecidos e impedem que a polpa amadureça naturalmente, tais danos são conhecidos como “*chilling*” ou friagem e temperaturas elevadas provocam desidratação dos tecidos, causando prejuízos ao desenvolvimento da planta e qualidade dos frutos (SOTO BALLESTRO, 1992)

A planta possui um elevado e constante consumo de água, em virtude de sua morfologia e da hidratação dos seus tecidos. As maiores produções de banana estão associadas a uma precipitação total anual de 1.900 mm, bem distribuída no decorrer do ano, ou seja, sem deficiência hídrica ou sem estação seca. Requer também alta luminosidade ainda que a duração do dia, aparentemente, não influa em seu crescimento e frutificação. (SILVA *et al.*, 1999)

O vento é outro fator climático que influencia o cultivo da banana, podendo causar desde pequenos danos até a destruição do bananal. Os prejuízos causados pelo vento são proporcionais à sua intensidade, os ventos secos podem provocar desidratação na planta em decorrência da evaporação elevada e os ventos frios, friagem. (SILVA *et al.*, 1999)

A bananicultura brasileira caracteriza-se por baixo nível técnico dos cultivos, estando sujeito a várias pragas e doenças, diminuindo a produtividade e qualidade dos frutos produzidos. As doenças variam de acordo com o clima e com a variedade cultivada, causadas por agentes fitopatogênicos como fungos, bactérias, vírus e nematóides, onde os fungos são os maiores responsáveis, conforme estudos levantados pela EMBRAPA (1999) as principais doenças que atingem a bananeira são:

- *Sigatoka-amarela*, conhecida também como cercosporiose-da-bananeira.
- *Sigatoka-negra*, semelhante a *sigatoka-amarela*, é também uma doença foliar causada pelo fungo *Mycosphaerella fijiensis*.
- Mal-do-panamá, conhecida também pelo nome *murcha-de-fusarium*, doença causada pelo fungo *Fusarium oxysporum f. sp. Cubense*, habitante natural dos solos.
- *Moko* ou murcha-bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum*.
- Nematoses são causadas por pequenos vermes conhecidos por nematóides *Radopholus similis*.
- Outras doenças atacam a planta como podridão mole; podridão-do-engajo; podridão-da-coroa; lesão-de-johnston ou pinta-de-piriculária; pinta-de-deightoniela; ponta-de-charuto; podridões-dos-frutos; antracnose.



No Brasil diversos insetos estão associados à cultura da bananeira, mas nem todos causam danos significativos, a planta possui defesa própria e muitas vezes nem se faz necessário a intervenção humana para o controle. As pragas mais presentes são:

- Broca-do-rizoma (*Cosmopolites sordidus*).
- Tripes- da-ferrugem-dos-frutos (*Tryphactothirps lineatus*).
- Tripes- da-erupção-dos-frutos(*Frankliniella spp.*).
- Traça-da-bananeira (*Opogona sacchari*): Lagartas-desfolhadoras (*Caligo spp. Opsiphanes spp. E Antichloris spp.*).
- Entre outras pragas como abelha arapuá, pulgão da bananeira, ácaros-de teia, etc.

Portanto, é preciso identificar corretamente a praga para tomar medidas de controle corretas para não interromper o equilíbrio biológico da plantação.

No Brasil para colheita do cacho nem sempre são observados fatores importantes para evitar danos aos frutos, especialmente quando se destina ao mercado local. O cacho pode ser colhido em diversos estágios de desenvolvimento, segundo a distância do mercado consumidor ou a finalidade a que se destina o produto, mas para isso é preciso levar em consideração certos aspectos morfológicos e fisiológicos, referentes ao grau de corte. Esse é determinado por meio de três métodos: grau fisiológico de maturidade, diâmetro do fruto e diâmetro do fruto por idade. (MACCARI e FELIPE, 2006 p. 52)

Segundo Soto Ballesterro (1992), os sistemas de medição de corte ou determinação do ponto ideal para a colheita tem variado através do tempo, como consequencia dos sistemas de cultivo, colheita, embalagem, transporte e comercialização, tendo-se buscado formas de medição seguras que maximizem o rendimento do fruto sem os riscos de uma maturação antecipada.

No primeiro método, a colheita do cacho baseia-se na aparência morfofisiológica (a banana está “da vez”) ou padrão visual, método utilizado pelos mercados locais ou mercados externos pouco exigentes. Não se pode quantificar o grau de engrossamento do fruto e, com isso, cometer graves erros de apreciação, com perdas significativas na colheita por corte antecipado ou tardio do cacho.

O método do diâmetro do fruto baseia-se na correlação existente entre o diâmetro do fruto central da segunda penca e o grau de corte, fazendo-se medição com calibrador. E, para complementar este último na busca de um método com maior eficiência, procurou-se determinar o diâmetro do fruto por idade, o qual

considera o momento em que o cacho emite a última penca e, com base no conhecimento das características, da época da brotação, da floração e da frutificação da bananeira, estabelece-se a época da colheita do cacho em semanas (12, 14 ou 16 semanas), nos cultivos para exportação são utilizados os dois últimos métodos. (MACCARI e FELIPE, 2006 p. 53)

No Brasil, de modo geral, as bananas são colhidas tanto mais antecipados em seu grau de desenvolvimento quanto maior é o tempo necessário para serem transportados do local de cultivo ao mercado consumidor e quanto mais quente é a estação do ano. Bananal na FIGURA 2.

**FIGURA 2: Bananal**



FONTE: Fazenda Fruticultura Bananal – Bananicultura, 2014.

Nos plantios de variedades de porte médio-alto e alto a colheita deve ser efetuada por duas pessoas, um que corta parcialmente o pseudocaule a meia altura entre o solo e o cacho e o outro que evita que o cacho atinja o solo, segurando-o

pela raqui masculino ou aparando-o no ombro, para que não toque o solo. A primeira corta, então, o engajo e o cacho são transportados para o carregador.

Nos cultivares de porte baixo e médio a colheita é de mais fácil execução, normalmente feita por uma pessoa, mas se o cacho for pesado, a colheita precisa ser feita por duas pessoas, mesmo com a variedade nanica, cujo porte geralmente não ultrapassa 1,50 m de altura.

O manejo pós-colheita em cultivos tradicionais está correlacionado com a organização do cultivo, com a mão-de-obra disponível, com o meio de transporte existente, bem como o destino do produto. Conforme Maccari e Felipe (2006 p. 56) “o fator de transporte se soma aos problemas e dificuldades na pós- colheita do produto, resultando em elevado volume de perdas e na perda de qualidade do produto”.

Em cultivos onde não existe galpão de embalagem os cachos são levados, logo após o corte, para um local sombreado e colocado no chão forrado com folhas de bananeira, onde são despencados. Não se deve amontoar nem cachos nem pencas a fim de evitar o atrito e pressão entre os frutos e o escorrimento de látex nas pencas.

Em cultivos mais tecnificados, os cachos são transportados para o galpão ou local de despencamento e embalagem a partir de carregadores, em cujas margens são colocados sobre folhas de banana, as quais dão certa proteção, às vezes são despencados, mas nem sempre as pencas são lavadas.

Em cultivos com emprego de tecnologia avançada, o cacho é transportado até o galpão de embalagem por meio de cabos aéreos, ou dependurados em carretas acopladas a trator, em pequenas propriedades cuja produção se destina ao mercado externo, os cachos são transportados em “cuna” diretamente do bananal para o galpão de embalagem, ou são envoltos em colchões de espuma de 1,5 cm de espessura e colocados sobre carreta. (SOTO BALLESTERO, 1992)

Maccari e Felipe (2006 p. 57) informam que para que ocorra o processo ideal de maturação da banana, deveria ser feito uso de câmaras de climatização, as quais possuem controle de temperatura e umidade relativa, e ainda controlam a circulação e renovação do ar interno.

### 2.1.3 Aspectos sócio-econômicos

Nas manifestações culturais de um povo – em sua língua, nas suas lendas e nos seus hábitos alimentares, por exemplo – sempre há objetos que são populares. A banana parece ser fonte inesgotável de inspiração para a cultura popular, não apenas no Brasil, como no mundo inteiro. Considerada uma das frutas mais apreciadas por sua aparência exuberante e gosto adocicado se faz, ainda, como importante componente alimentar e econômico em diversas sociedades.

A banana é consumida por um público altamente abrangente. Há tendência de maior consumo, segundo Rodrigues, por parte das classes socioeconômicas mais baixas (por conta de seu grande teor energético e baixo preço), porém não se restringem a elas. (*apud* SEBRAE, 2008, p.48).

A fruta assume lugar de destaque na produção mundial de bens agrícolas por parte de diversos países, marcadamente aqueles localizados nos trópicos.

A produção mundial de bananas em 2011 foi de 91 milhões de toneladas, segundo a FAO. O Brasil é quarto maior produtor, com uma produção média anual de sete milhões de toneladas, perdendo apenas para Índia, Filipinas e China (IBGE, 2013). Essa fruta de pequeno valor agregado e elevado valor nutritivo possui processo rápido de deterioração, o que torna a comercialização do fruto *in natura* bastante difícil após o amadurecimento.

Além de encontrar-se entre os maiores produtores, o Brasil é um dos maiores consumidores de bananas, pois sua produção é praticamente consumida no próprio país - entre as frutas frescas o consumo per capita anual da banana é de 29 kg segundo (IBGE, 2004).

Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2009), a produção brasileira de banana está presente em todos os estados brasileiros e ocupa em alguns, elevada importância social e econômica como é caso das comunidades do Vale do Ribeira (estados do Paraná e São Paulo).

Além de fonte de alimentação, o cultivo da banana destaca-se na fixação de mão-de-obra no meio rural e gerador de divisas para o País. São Paulo destaca-se com cerca de 18% da produção brasileira, seguida pela Bahia e Santa Catarina.

Dentre os estados produtores, o Paraná possui um dos maiores rendimentos, com 23,97 toneladas por hectare. (IBGE, 2012).

Há coincidências entre os grandes produtores e consumidores da fruta, a Indonésia, Filipinas, México e Tailândia (além de Índia e Brasil), países situados entre os dez maiores produtores, no QUADRO 1 constam como importantes mercados consumidores. Mais uma vez, a importância socioeconômica da fruta pode ser destacada: “ela constitui fonte de alimento primordial em países pobres das faixas tropicais do globo, por sua facilidade de cultivo, simplicidade no preparo, baixo preço e boas características alimentares”. (SEBRAE, 2008, p.17).

**QUADRO 1: 10 países maiores produtores mundiais de banana**

País	Milhões de toneladas	Porcentagem
<b>Produção</b>		
 Índia	29.7	20%
 Uganda	11.1	8%
 China	10.7	7%
 Filipinas	9.2	6%
 Equador	8.0	6%
 Brasil	7.3	5%
 Indonésia	6.1	4%
 Colômbia	5.1	4%
 Camarões	4.8	3%
 Tanzânia	3.9	3%
Outros países	49.6	34%
<b>Total Mundial</b>	<b>145.4</b>	<b>100%</b>

FONTE: FAOSTAT, 2011.

Pelas características naturais do território brasileiro e pelas escolhas históricas do país no sentido de seu desenvolvimento econômico, a atividade agrícola assumiu posição relevante na geração de riqueza no Brasil. A banana participa significativamente deste contexto, assumindo um papel de particular destaque pelo volume produzido e transacionado.

Conforme EMBRAPA (2007, p.22):

As frutas, como um todo, representam apenas 6,4% das despesas médias das famílias no país; isto é um reflexo, além das questões econômicas, da falta de hábito e de cultura do brasileiro médio em relação à percepção das frutas como alimentos importantes para uma boa nutrição. Mesmo assim, o consumo específico de banana é significativo: vale lembrar que o Brasil constitui o segundo maior mercado consumidor da fruta no mundo. A intensa dedicação brasileira à bananicultura, somada à sua baixa participação no mercado exportador, reflete as dimensões do seu consumo interno.

Há grande correlação entre a produção e o consumo alimentar da banana. Isso significa dizer que os sucessivos aumentos de produtividade experimentados pelas colheitas brasileiras foram absorvidos pelo consumo interno do produto. Para o SEBRAE (2008, p.25) “é importante notar que uma quantidade em torno de 15% da produção nacional é direcionada para outros usos que não a alimentação”.

Uma das medidas tomadas para ao esforço de internacionalização da bananicultura brasileira é o fortalecimento dos pólos produtivos, através de atividades de fomento à gestão e à produção oferecidas por diversos órgãos de apoio, tanto governamentais quanto privados. Um exemplo é o *Brazilian Fruit*, programa de marketing internacional sob responsabilidade da Agência de Promoção de Exportações e Investimentos (Apex-Brasil).

A EMBRAPA (2005) afirma que “o gradativo aumento de qualidade da fruta brasileira também permite uma intensificação da exportação para mercados com grande demanda, como o norte-americano e o europeu”. Empenhos empregados ao longo da cadeia produtiva, na forma de programas como a Produção Integrada de Frutas (PIF), proporcionam a oferta de produtos mais adaptados aos padrões exigidos pela demanda internacional.

Atualmente a produção de banana no Brasil dá-se de forma irregular, aliado a isso há de se considerar as dificuldades de pós-colheita, tal quadro demonstra grandes perdas da produção total, que variam de 20% a 50 %. A situação é agravada pelo fato de ser um fruto pouco rentável para o produtor, sobretudo para aquele que trabalha com a monocultura e em sistema familiar, de maneira que esse não consegue prover a renda da sua família somente com o cultivo da banana, exemplifica tal caso o ditado popular “a preço de banana”, que designa qualquer coisa muito barata.

As perdas ao longo da cadeia produtiva são significativas, e ocorrem desde o pomar até o consumidor final. As perdas variam conforme as estações do ano, as distâncias entre o produtor e o consumidor, o tipo de embalagem, o tipo de transporte, a maneira de exposição do produto no ponto de venda e até mesmo o acondicionamento da fruta na casa do consumidor.

Com a industrialização da fruta, dois novos resíduos são produzidos: rejeitos de frutas de má qualidade e descarte de cascas devido ao beneficiamento da polpa.

Dessa forma, para cada tonelada de bananas colhidas, 100 kg do fruto são rejeitados e aproximadamente 4 t de resíduos lignocelulósicos são gerados, sendo 3 t de pseudocaule, 160 kg de engaços, 480 kg de folhas e 440 kg de cascas. Normalmente, com exceção às bananas rejeitadas e uma parte das cascas que são destinadas à alimentação de suínos, esses resíduos permanecem no campo para decomposição natural. (GONÇALVES FILHO, 2011, p. 10).

O Brasil encontra-se entre os maiores produtores e consumidores de bananas, mas toda sua produção é praticamente consumida no próprio país, entre as frutas frescas o consumo *per capita* anual da banana é de 34,5kg segundo (FRUPEX *apud* EMBRAPA, 2009). O seu cultivo é de grande importância para economia nacional, empregando muitas pessoas direta e indiretamente, Segundo a EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2009, p. 507).

A produção brasileira de banana é particular no sentido de sua distribuição espacial, estando presente em todos os estados brasileiros e ocupando em alguns, elevada importância social e econômica. À banana cabe papel fundamental como importante fonte de alimentação, fixadora de mão-de-obra no meio rural e geradora de divisas para o País.

Por outro lado, segundo análises de Vilela, Castro e Avellar (2006):

a bananicultura se destaca como uma das culturas mais seguras sob o ponto de vista econômico para os próximos dez anos, porque há pouca expectativa quanto a um eventual excesso de produção mundial, o que resultaria em oscilações dos preços internacionais.

Em vista de vários cenários alternativos de crescimento no Brasil, a banana se manteve no grupo de frutas de menor risco para os produtores, haja vista que a demanda, em todos os casos, superaria a oferta prevista.

EMBRAPA (1997, p.511)

no Brasil, apesar da expansão de cultivos comerciais em bases técnicas mais evoluídas, a cultura da banana ainda pode ser caracterizada como



predominantemente de uso intensivo da mão-de-obra, sendo esta de cunho familiar.

Estudos realizados por Alves (1999) indicaram que por envolver basicamente mão-de-obra familiar, a cultura da banana absorve em média seis pessoas por hectare/ano. Essa situação é consequência direta da própria estrutura agrária que aporta essa cultura.

Não há dados oficiais sobre o número de empregos efetivamente criados pela bananicultura. Acredita-se, contudo, que um emprego direto é criado a cada hectare de plantação, enquanto outros dois são gerados indiretamente para essa mesma área plantada. Sob essa perspectiva, haveria em torno de 500.000 empregos diretos e mais 1.000.000 indiretos. É uma proporção emprego/hectare menor que a da fruticultura em geral, devido à baixa complexidade dos processos de cultivo e de colheita da fruta.

#### **2.1.4 Variedades e características**

“No mundo inteiro existem cerca de 180 variedades de bananas, sendo que no Brasil frutificam cerca de 35 delas, distribuindo-se em bananeiras ornamentais, industriais e comestíveis” afirmam Sousa e Conceição (2002, p. 21).

Conforme Padovani (1989) “são pertencentes à classe das monocotiledôneas, ordem das *Scitamineae*, família das *musáceas*, subfamília *Musoideae*, gênero *Musa*”, da qual fazem partes inúmeras outras plantas de características semelhantes à banana, muitas das quais originárias e nativas de diversas regiões do continente latino-americano.

Para indicar os nomes das variedades e/ou subespécies há uma grande confusão. No Brasil, uma mesma variedade pode ter dois nomes ou mais. Há nomes que se aplicam a duas variedades, conforme a região. Cada espécie tem suas particularidades em termos de consistência e sabor, o que torna seus usos e modos de preparo diferentes. Há bananeiras no Japão, Paquistão, Filipinas e até no Brasil, por exemplo, que são cultivadas apenas para fins ornamentais ou por suas fibras, usadas no artesanato.

A classificação botânica das bananeiras segundo Cunha (1948), Padovani (1989), Maccari e Felipe (2006), como plantas da:



Classe: Mono cotyledonea

Ordem: Scitaminea

Família: Musaceae

Subfamília: Musoideae

Gêneros:

- **Ensete**: plantas monocárpicas, frutos não comestíveis

- **Musa**: constituído por quatro seções.

– Australimusa: são utilizadas para extração de fibras.

– Callimusa: de valor apenas ornamental.

– Eumusa: nesta seção estão as bananas comestíveis que tem grande valor comercial as quais pertencem à:

- *Musa cavendishii*: Nanica, nanicão e Congo entre outras.

- *Musa sapientum*: São Tomé, Ouro, Prata, Branca, Maçã.

- *Musa paradisiaca*: Da Terra, Maranhã e Anã.

- *Musa corniculata*: Pacovã.

As variedades de banana disponíveis no mercado diferem com relação ao uso que delas se fazem e às características do seu cultivo. No mercado brasileiro, os cultivares com maior demanda são da *Musa cavendishii* (grupo que inclui nanica, nanicão e grande naine), a prata, maçã, branca e ouro (*Musa sapientum*), QUADRO 2. Outras variedades encontradas com certa frequência são: Pacovã (*Musa corniculata*) e da Terra (*Musa paradisiaca*).

**QUADRO 2: Cultivar, características físicas e sabor de bananas**

CULTIVAR	CARACTERÍSTICAS FÍSICAS	SABOR E UTILIZAÇÃO
Prata	Bananeira verde clara e de porte alto. Fruto de tamanho médio (10 a 13 cm), extremidades pronunciadas. Casca muito fina, cor amarelo-ouro	Excelente para consumo natural, preparo de bananada e desidratação
Nanica	Planta grossa de porte pequeno. Fruto grande (14 a 26 cm), um pouco curvo, casca fina e sensível ao manuseio.	Doce e aromática. Muito consumida in natura. Apresenta a maior inserção no mercado exportador e presta-se bem à industrialização.
Maçã	Bananeira alta, porém resistente aos ventos fortes por conta do vigor do pseudocaule. Frutos curtos, pontiagudos, cor vermelho-clara ou amarelada. Casca fina e delicada.	Polpa macia, suculenta, sabor doce-acidulado. Apesar da boa aceitação, tem pouca resistência ao transporte.
Ouro	Porte pequeno a médio; gera cachos pequenos com frutos pequenos (5 a 14 cm), delgados, com ápice arredondado e casca fina.	Polpa amarelo-dourado, com alto teor de açúcar. Excelente aceitação no mercado; pode apresentar valores de venda mais elevados.

FONTE: Adaptação SEBRAE (2008).

Apesar do predomínio dos cultivares acima especificados, há muitos outros que têm sido apresentados, aos poucos ao paladar brasileiro. A Empresa Brasileira

de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA) desenvolveu, na região Norte do país, uma série de ações de degustação de variedades ainda desconhecidas da maior parte da população, como a Prata Zulu, a Caipira, a Pelpita e a *Thap Maeo*, todas resistentes à Sigatoka negra. Outra prática que pode representar alterações nos mercados regionais é a introdução de variedades híbridas ou geneticamente modificadas, como a Fhia-18.

De acordo com Carlos Alexandre Almeida (2008) pesquisador do Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada da Universidade de São Paulo – USP, a comercialização dos cultivares obedece às preferências de cada mercado local. Por exemplo, nas regiões de Petrolina (PE) e Juazeiro (BA), há claro predomínio da variedade Pacovã, enquanto as regiões produtoras em Santa Catarina dedicam-se ao cultivo da Nanica. Em Minas Gerais, o principal cultivar vendido é o Prata, enquanto os mercados exportadores demandam as frutas do grupo *Cavendishii*.

A variedade “nanica”, também conhecida como banana d’água ou caturra, sua altura varia de 1,5 a 2,0 metros. O cacho possui de 10 a 13 pencas, e o fruto mede 14-25 cm. Sua polpa vai de branco-cremosa a amarelo-pálida, com sabor doce agradável. A “nanicão” é uma mutante do cultivar nanica, porém apresenta porte que varia entre 3 a 3,5 metros. O cacho chega a pesar mais de 40 kg, e possui de 10-15 pencas. Os frutos com 15 a 26 cm e são mais curvos que o da nanica. A polpa tem o mesmo sabor da nanica e de cor quase creme. (PADOVANI, 1986; MACCARI e FELIPE, 2006).

### **2.1.5 Produtos derivados da banana**

A banana é um alimento altamente energético, cerca de 100 cal/ 100 g de polpa, e rico em sais minerais (potássio, fósforo, cálcio e ferro), a despeito de seus baixos valores protéicos e lipídicos, seus teores superam o de outras frutas, como por exemplo, a maçã, pêra, cereja ou pêssego. Para banana passa, em calda, sucos, produtos desidratados (flocos, pós, farináceos, granulados), fermentados (cerveja, cachaça, vinho, etc) é usado a banana madura, afirmam Maccari e Felipe (2006, p. 61):

A composição química da fruta muda conforme seu grau de maturação. Para o processamento da maior parte dos produtos derivados de banana são utilizadas frutas maduras, com aroma e sabor intensos. No entanto existem alguns subprodutos de banana que requerem o uso da fruta ainda verde, devido ao grande teor de amido.

A partir da banana muitos produtos podem ser feitos, um dos principais é a massa da polpa da banana madura (MPBM), conforme EMBRAPA (1999) “na industrialização da banana podem ser obtidos vários produtos, dentre os quais: purê de banana (na forma asséptica, congelada, acidificada, e preservada quimicamente), que é utilizada como matéria prima para a elaboração de inúmeros produtos”.

A EMBRAPA (2000) desenvolveu vários produtos:

- Purê de banana: É o produto obtido do esmagamento da fruta por meio de processamentos diferentes: asséptico, acidificados, congelamento e conservado quimicamente. No Brasil, o purê é utilizado na elaboração de doces em massa, néctar, geléia, sorvete, iogurte, etc. Em outros países, é utilizado na alimentação de crianças. Tem grande demanda de exportação no estado asséptico.
- Néctar de banana: consiste na mistura de purê de banana, açúcar, ácido orgânico (geralmente ácido cítrico) e pectina em proporções adequadas para obtenção de um produto pronto para o consumo e com boa aceitação para o consumidor.
- Doce em massa (bananada): É resultante do processamento das partes comestíveis e desintegradas da banana (*in natura* ou do purê) com açúcar, com ou sem adição de água, ácido orgânico e pectina até uma consistência adequada. Em seguida, o doce é acondicionado para garantir sua perfeita conservação.
- Suco de banana concentrado e clarificado: é um produto de fácil obtenção feito através da redução da viscosidade da polpa com o uso de enzimas ou compostos que atuam de maneira similar. O rendimento médio do processo é de 80 % de suco sobre o peso da fruta.
- Flocos, pós e granulados: são feito através da secagem e desidratação da MPBM, até que tenha apenas 3 % de umidade, a embalagem deve ser hermética, para evitar a alteração na presença de oxigênio e umidade, muito utilizados na mistura de cereais.
- Banana passa ou seca: é um produto obtido pela perda parcial da água da fruta madura, inteira ou em pedaços, por processos tecnológicos adequados, ou

secagem natural em secador solar ou artificial, a lenha, a gás ou elétricos. Tem grande aceitação no mercado externo.

- Bebidas alcoólicas: devem ser feitas a partir da fruta bem madura, pois estas apresentam maiores teores de açúcar que facilitam a fermentação alcoólica, em média uma tonelada de banana produz setenta litros de etanol. Podem ser feitos vinhos, licores e aguardente.
- Vinagre de banana: é um produto fermentado em duas etapas, inicialmente ocorre a fermentação alcoólica, através de leveduras em que os açúcares se transformam em álcool etílico, na sequência ocorre a fermentação acética em que o álcool é convertido em ácido acético.
- Banana em calda: é fabricado a partir da fruta descascada inteira ou cortada em fatias. O processo consiste no acondicionamento das frutas e do xarope em latas ou potes de vidro, seguido de tratamento térmico e armazenamento.
- Farinha de banana: pode ser feita da banana verde ou madura. Obtido através da desidratação da polpa, com sabor suave. Quando verde a retirada da umidade é mais fácil, é imersa em água, descascada e picada, é feito tratamento em solução para não escurecer, em seguida é secada e triturada. A farinha de banana madura apresenta uma cor branca amarelada e com odor característico, o processo é o mesmo da banana verde. É uma ótima alternativa para as bananas que não são comercializáveis e é muito indicada na alimentação infantil, como fonte energética. Está sendo cada vez mais introduzida na alimentação dos brasileiros através de massas, sobremesas, servindo de fonte de renda para muitas pessoas.
- Amido de banana: é extraído através de um procedimento: uma parte da banana verde é moída e homogeneizada com duas partes de solução contendo 0,2 % de NaOH, a seguir decantada e filtrada. Esse amido é de qualidade intermediária entre os de cereais e tubérculos. Antes de sua utilização devem ser feitos testes como, por exemplo, para a aplicação industrial em alimentos, tecidos, produtos farmacêuticos, entre outros.
- Chips de banana: são feitos normalmente com banana verde, mas podem ser feitos com bananas maduras também. Quando verdes são levadas a uma solução quente para facilitar a retirada da casca, são fatiadas manualmente ou com facas

e posteriormente fritas por imersão em óleo vegetal comestível, no norte e nordeste é maior o consumo, na região do Vale do Ribeira/SP é utilizada a banana inteira, com casca, o produto fica mais atrativo devido ao contraste de coloração da casca e polpa. Em seguida são embalados e vendidos.

- Banana liofilizada: a fruta é submetida a baixas temperaturas e pressão negativa (vácuo), em que a água entra em sublimação, ou seja, a água passa diretamente do estado sólido para o gasoso. O resultado são pedaços de frutas porosos, livres de umidade que matem a pigmentação, nutrientes, teor de vitaminas, aroma e o formato originais.

### 2.1.6 Composição da banana

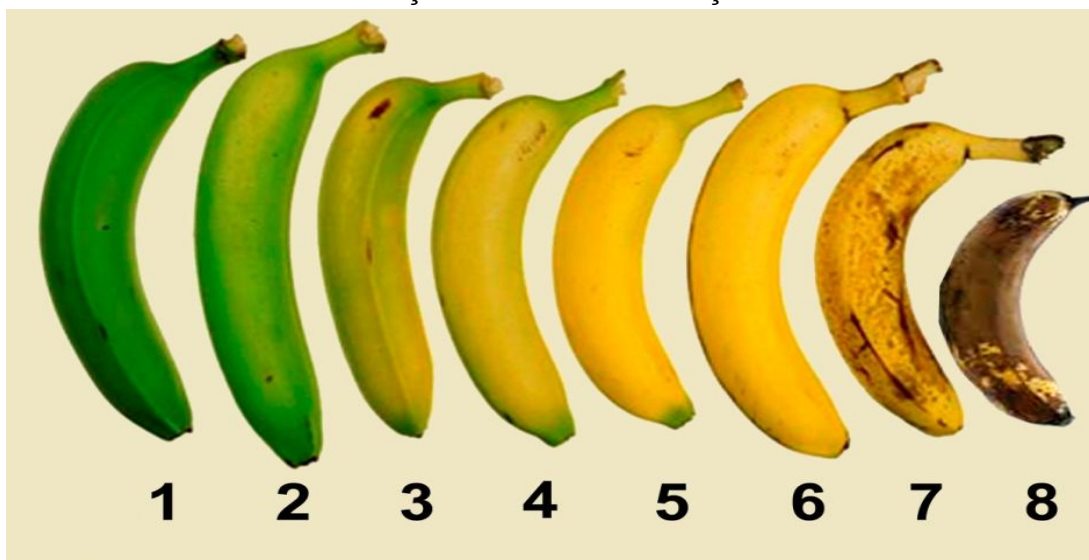
A composição da banana varia de acordo com a espécie, região, clima, solo. Os graus de maturação de 1 a 7, do QUADRO 3, estão representados na FIGURA 3; comparados nos QUADRO 4, 5, 6.

**QUADRO 3: Graus de maturação da banana**

GRAU DE COLORAÇÃO	COR DA CASCA
1	Verde
2	Verde, traços amarelos
3	Mais verde que amarelo
4	Mais amarelo que verde
5	Amarelo, pontas verdes
6	Totalmente amarelo
7	Amarelo com leves manchas marrons
8	Amarelo com aumento de áreas marrons

Fonte: CHITARRA e CHITARRA, 1984; CORAZZI *et al.*, 1989; MEDINA *et al.*, 1978. (*apud* GODOY, 2010, p.16)

Os graus de maturação de 1 a 7, do QUADRO 3, estão representados na FIGURA 3.

**FIGURA 3: Graus de coloração da casca na maturação da banana de 1 a 7.**

FONTE: Adaptação da CIÊNCIA DE AGRICULTOR, 2014.

**QUADRO 4: Teores de amido e açúcares totais relacionados com o grau de coloração da banana variedade Grande Naine.**

Grau de coloração	Amido (%)	Açúcares Totais (%)
1	20,0	1,3
2	18,0	2,5
3	16,0	4,5
4	10,2	7,5
5	5,8	13,5
6	2,5	18,0
7	1,5	19,0
8	1,0	19,0

FONTE: CORAZZI *et al.*, 1989; CHITARRA e CHITARRA, 1984; MEDINA *et al.*, 1978; WILLS *et al.*, 1984. (apud GODOY, 2010 p.16).

**QUADRO 5: Composição da polpa da banana nanica (*Musa cavendishi*) com diferentes graus de coloração da casca.**

Grau de coloração da casca	Relação Polpa/Casca	Acidez (% Ácido málico)	S.S (° Brix)	Amido (%)	Açúcares Totais (%)	pH	Umidade
1	1.37+-0.20	0.41+-0.14	4.69+-0.58 3.0	17.73+-0.32 21.2	1.32+-1.66 1.3	5.24+-0.08 5.6	72.0+-1.27 71.9
2	1.45+-0.20	0.54+-0.14	7.28+-0.58	13.68+-0.32	3.21+-1.66	5.02+-0.08	72.32+-1.27
3	1.53+-0.20	0.63+-0.14	12.48+-0.58 12.2	8.76+-0.32 12.0	6.57+-1.66 9.0	4.87+-0.08 4.6	72.64+-1.27 73.2
4	1.61+-0.20	0.67+-0.14	17.78+-0.58 18.0	4.96+-0.32 10.2	11.26+-1.66 11.1	4.77+-0.08 4.7	72.97+-1.27 73.6
5	1.69+-0.20	0.67+-0.14	20.81+-0.58 21.7	2.65+-0.32 5.8	16.1+-1.661 14.4	4.75+-0.08 4.8	73.28+-1.27 74.0
6	1.78+-0.20	0.62+-0.14	22.10+-0.58 24.2	1.43+-0.32 1.9	19.5+-1.66 17.2	4.78+-0.08 4.9	73.61+-1.27 75.1
7	1.96+-0.20	0.52+-0.14	22.61+-0.58 22.5	.82+-0.32 0.8	19.71+-1.66 16.2	4.88+-0.08 5.1	73.92+-1.27 76.1

FONTE: CHACÓN *et al.*, 1987; WILLS *et al.*, 1984. (apud GODOY, 2010 p.22).

S.S. – Sólidos solúveis. OBS: grau de coloração conforme QUADRO 3.

**QUADRO 6: Características físico-químicas, segundo critérios de maturação da banana nanica.**

Estágio	Relação Polpa/Casca	Acidez (%)	S.S (%)	Amido	Açúcares Totais (%)	pH	S.T (%)
verde	1,23	0,325	3,025	19,91	0,43	5,60	26,65
meio verde	1,26	0,676	15,20	10,44	8,07	4,90	25,49
meio madura	1,49	0,600	18,25	3,72	13,3	5,00	25,32
madura	1,74	0,512	19,60	0,99	16,79	5,25	23,43
muito madura	2,00	0,402	--	0,52	14,38	5,55	21,33

FONTE: CARVALHO e CARDOSO, 1980; CHITARRA, 1984; DE MARTIN *et al.*, 1965/1966; MENEZES *et al.*, 1980. S.S. (*apud* GODOY, 2010 p.23) - Sólidos Solúveis. S.T. – Sólidos totais.

O QUADRO 7 mostra a composição de calorias, proteína, gordura, sais minerais e algumas vitaminas das cultivares maçã, nanica e prata.

**QUADRO 7: QUADRO: Composição de alguns cultivares de banana (por 100 g de polpa).**

Composição	Banana Maçã	Banana Nanica	Banana Prata
Calorias (kCal)	97,7	99 10	100
Proteína (g)	1,44	2,56	2,3
Gordura (g)	0,2	0,29	0,2
Carboidratos (mg)	26,4	20,8	29,6
Cálcio (mg)	0,3	0,02	0,01
Ferro (mg)	60	1	0,6
Potássio (g)	0,027	0,026	0,03
Magnésio (mg)	25	25	25
Zinco (mg)	0,3	0,2	0,3
Fósforo (mg)	26	31	25
Vitamina A (U.I.)	127	127	127
Vitamina B1 (mg)	0,4	0,37	0,79
Vitamina B2 (mg)	0,3	0,78	0,9
Vitamina C (mg)	12,7	4,1	17,3

FONTE: MANICA, 1998, p.16.

No QUADRO 8 apresentam-se o perfil de açúcares e sólidos em diferentes cultivares (variedades) de banana. Destaca-se a ‘Grande Naine’, denominação da banana nanica em outras regiões do país, e que foi utilizada neste trabalho.

**QUADRO 8: Perfil de açúcares e sólidos em diferentes variedades de banana**

<b>VARIEDADES</b>	<b>Açúcar Total (%) glicose</b>	<b>Açúcar reductor % glicose</b>	<b>Açúcar reductor % sacarose</b>	<b>Umidade %</b>	<b>Sólidos totais %</b>
Bucaneiro	17,41	15,23	2,94	78,81	21,19
Calipso	17,74	15,61	2,91	79,37	20,62
Thap Maeo	20,64	19,77	1,86	75,34	24,65
Caipira	17,83	11,18	7,20	76,00	23,99
FHIA 18	18,33	17,00	2,18	78,32	21,67
Ambrósia	18,63	14,26	5,08	77,29	22,70
FHIA 02	20,89	18,88	2,95	76,58	23,41
Grande Naine	18,70	12,61	6,72	76,91	23,08
Média	18,77	15,56	3,98	77,32	22,66
CV (%)	8,27	16,37	62,00	1,70	5,80

FONTE: GODOY, 2010, p.110.

### 2.1.7 Voláteis da banana

Tressl e Jennings (1972) identificaram que os principais constituintes do aroma de banana são: acetato de etila, etanol, acetato de propila, acetato de isobutila, etil butirato, isobutil butirato, 3-metil-butil acetato (isoamil acetato ou acetato de isoamila).

Facundo *et al.* (2012) estudaram a produção dos compostos voláteis de diferentes cultivares de banana, durante a maturação em câmara fria. Os principais compostos voláteis em frutas de banana variedade Nanicão foram: 2-pentanol, 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico), 2-metilpropil butanoato, 3-metilbutil acetato (acetato de isoamila).

Durante a maturação, o metabolismo dos frutos "desenvolve a capacidade para converter alguns dos ácidos graxos em ésteres, cetonas e alcoóis (como 3-metil-1-butanol), as quais são importantes compostos voláteis em muitas frutas com aroma distinto". (JIANG e SONG, 2010; LINDSAY, 1996; TRESSL e DRAWERTL, 1973).

Os ésteres são os compostos mais abundantes detectados em bananas maduras, que representam mais de 50% dos compostos identificada. Ésteres de fruta são formados pela reação entre alcoóis e derivados de acil CoA do ácido graxo



e de aminoácido. (FACUNDO *et al.* 2012). Essa reação é catalisada pela enzima acil álcool transferase (AAT). (PEREZ *et al.*, 1997).

O desenvolvimento de um aroma agradável durante o amadurecimento dos frutos ocorre devido ao metabolismo de aminoácidos ramificados, tais como, leucina com desaminação e descarboxilação. Em seguida, um aldeído é formado, que pode ser transformado no seu álcool correspondente e, com a adição de ácido acético, produz acetato de isoamila (3-metil-1-butanol-acetato), que tem o aroma característico de banana. (BERGER, 1991; JIANG e SONG, 2010; MCGORRIN, 2002; RODRIGUEZ-AMAYA, 2003). Terpenos, álcoois, aldeídos e cetonas contribuem diretamente para o sabor de fruta madura, mas ésteres são compostos de impacto no aroma de banana.

Os aldeídos são formados pela auto-oxidação de ácidos graxos insaturados. Nonanal e decanal são formados pela oxidação de ácido oleico; hexanal, (E)-2-octenal e (E)-2-nonenal a auto-oxidação do ácido linoleico, e (E)-2-hexenal, (E)-2-heptenal e (E, Z) -2,6-di nonadienal pela autooxidação de ácido linolênico (BELITZ, GROSCH e SCHIEBERLE, 2009). Cada aldeído tem uma nota de odor distinto que poderia afetar o aroma da banana. Por exemplo, a nonanal tem um odor frutado gorduroso e de sabão; decanal tem odor de casca de laranja; hexanal tem odor de folhas verdes; (E)-2-octenal tem um odor gorduroso e de noz, (E)-2-nonenal tem odor gorduroso de pepino; (E)-2-hexenal tem um odor de maçã, E-2-heptenal tem um odor gorduroso e amargo de amêndoa, e (E, Z) -2,6-di-nonadienal tem um odor de pepino (BELITZ *et al.*, 2009). No entanto, os aldeídos não foram detectados em frutas inteiras, porque a sua concentração ou volatilidade é baixa para superar a barreira da casca de banana. (FACUNDO *et al.* 2012).

As cetonas aparecem somente nos frutos de bananas maduros. A 2-heptanona e 2-undecanona foram detectadas na variedade Nanicão e 2-nonanona na variedade Prata. (FACUNDO *et al.* 2012). A presença desses compostos é devido à oxidação lipídica (BELITZ *et al.*, 2009). A 2-pentanona tem aroma frutado doce levemente de banana, a 2-heptanona aroma frutado amadeirado herbáceo. (BELITZ *et al.*, 2009).

## 2.2 AGUARDENTES

O MAPA no Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, no art. 57, define aguardente:

Aguardente de fruta é a bebida com graduação alcoólica de trinta e seis a cinquenta e quatro por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida de destilado alcoólico simples de fruta ou pela destilação de mosto fermentado de fruta.

E no parágrafo primeiro, informa que,

A destilação deverá ser efetuada de forma que o destilado tenha o aroma e o sabor dos elementos naturais voláteis contidos no mosto fermentado, derivados dos processos de fermentação ou formados durante a destilação ou em ambos. (BRASIL, 2009).

O sabor das bebidas alcoólicas é formado por inúmeros compostos orgânicos voláteis que lhe conferem odor e gosto típico. Esses compostos podem ser divididos em vários grupos de acordo com sua natureza química. Alcoóis superiores, ácidos graxos e ésteres formam quantitativa e qualitativamente os grupos com maior presença nas bebidas alcoólicas, sendo os alcoóis superiores os mais abundantes.

No caso das aguardentes de frutas, são muitos os compostos fixos e voláteis que determinam o sabor e aroma do produto final. Alguns tipos de aguardentes de frutas mencionados na legislação são: *Kirchs*, *Dirchwassée*, quando se tratar de aguardente de cereja; *Slivowicz*, *Slibowika*, *Mirabella*, quando se tratar de aguardente de ameixa; ou *Calvados*, quando se tratar de aguardente de maçã. (BRASIL, 2009)

A aguardente de banana é constituída principalmente de etanol e água, entretanto as características sensoriais da bebida são obtidas pela presença de compostos secundários presentes em pequenas quantidades, como o acetato de isoamila e acetato de etila. O acetato de isoamila é o composto mais importante na formação do aroma característico de banana madura e pode ser obtido pela fermentação do mosto de banana. A legislação brasileira não define quais os componentes químicos são necessários no processo de avaliação da qualidade da aguardente, embora a Portaria 371 de 1974, para aguardentes de fruta, estabelece

os níveis máximos de impurezas. A padronização da composição de aguardentes, definindo-a nas informações do rótulo, é um fator básico para a elaboração de aguardentes com maior competitividade no mercado nacional e internacional.

Guimarães Filho (2003) identificou e quantificou na produção de aguardente de banana distintos metabólitos, conforme apresentado no QUADRO 9.

**QUADRO 9: Média das concentrações dos compostos químicos (mg/100 mL de álcool anidro<sup>-1</sup> analisados por cromatografia gasosa na aguardente de banana, produzida a partir de três fermentações sucessivas.**

Metabólitos	Concentrações (mg /100 mL álcool anidro)
Acetaldeído	37,50
Acetato de etila	21,10
Metanol	398,85
1 – propanol	409,50
Isobutanol	152,88
Álcool Isoamílico	406,67
Álcool Amílico	7,82
1 – hexanol	1,43

FONTE: GUIMARÃES FILHO, 2003, p.23.

As bebidas são classificadas, conforme o Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, no art. 12, em:

I – bebida não-alcoólica: é a bebida com graduação alcoólica até meio por cento em volume, a vinte graus Celsius, de álcool etílico potável, a saber:

- a) bebida não fermentada não-alcoólica; ou
- b) bebida fermentada não-alcoólica;

II – bebida alcoólica: é a bebida com graduação alcoólica acima de meio por cento em volume até cinqüenta e quatro por cento em volume, a vinte graus Celsius, a saber:

a) bebida alcoólica fermentada: é a bebida alcoólica obtida por processo de fermentação alcoólica;

b) bebida alcoólica destilada: é a bebida alcoólica obtida por processo de fermento-destilação, pelo rebaixamento do teor alcoólico de destilado alcoólico simples, pelo rebaixamento do teor alcoólico do álcool etílico potável de origem agrícola ou pela padronização da própria bebida alcoólica destilada;

c) bebida alcoólica retificada: é a bebida alcoólica obtida por processo de retificação do destilado alcoólico, pelo rebaixamento do teor alcoólico do álcool etílico potável de origem agrícola ou pela padronização da própria bebida alcoólica retificada; ou

d) bebida alcoólica por mistura: é a bebida alcoólica obtida pela mistura de destilado alcoólico simples de origem agrícola, álcool etílico potável de origem agrícola e bebida alcoólica, separadas ou em conjunto, com outra bebida não-alcoólica, ingrediente não-alcoólico ou sua mistura.

De acordo com a Portaria 371 de 1974, para aguardentes de fruta, as impurezas totais voláteis “não álcool” (soma de aldeídos, ácidos voláteis, ésteres,

furfural e alcoóis superiores) não poderão ser inferiores a 0,200g e nem superiores a 0,650g por 100mL de álcool anidro. Especificamente essas impurezas deverão obedecer aos seguintes limites (BRASIL, 1974):

- acidez volátil em ácido acético não deve ser superior a 0,100 g/100 mL de álcool anidro;
- ésteres em acetato de etila não devem ser superiores a 0,250 g/100mL de álcool anidro;
- aldeídos em aldeído acético não superiores a 0,030 g/100mL de álcool anidro;
- furfural não deve ser superior a 0,005 g/100mL de álcool anidro;
- o total de alcoóis superiores não deve ser maior que 0,300 g/100mL de álcool anidro

Já para aguardente de cana-de-açúcar a Instrução Normativa Nº 13, de 29 de Junho de 2005 regulamenta os teores máximos dos compostos secundários, a saber (BRASIL, 2005):

- soma dos alcoóis isobutílico (2 metil propanol), isoamílicos e n-propílico (1-propanol) tem limite máximo de 360 mg/100 mL em álcool anidro;
- 200 mg/100 mL em álcool anidro para ésteres em acetato de etila;
- 150 mg/100 mL em álcool anidro para acidez volátil expressa em ácido acético;
- 30 mg/100 mL para aldeídos totais em acetaldeído;
- 5 mg/100 mL para soma de furfural e hidroximetilfurfural;
- 20,0 mg/100 mL de álcool metílico;
- 150 µg/L de carbamato de etila;
- 5 mg/100mL em acroleína;
- 10 mg/100mL em álcool séc butílico;
- 3 mg/100mL de álcool n-butílico.
- 5 mg/L para cobre;
- 200 µg/L para chumbo;
- 100 µg/L para arsênio.

Na literatura são encontrados alguns trabalhos sobre aguardentes de frutas e outras matérias-primas, tais como melão, manga, mexerica, abacaxi, fruta (figo-da-índia) da palma forrageira, jabuticaba, cajarana, mel de abelha, casca de mandioca, sorgo sacarino. No QUADRO 10 apresentam-se exemplos de aguardentes de frutas e tipo de inóculos utilizados. A produção de aguardente de banana foi estudada por GUIMARÃES FILHO (2003), por SILVA (2004), por LARA (2007), por SILVA *et al.* (2009), por Paulino *et al.* (2009), por ALVARENGA (2011).

**QUADRO 10: Exemplos de aguardentes de frutas e outras matérias-primas**

REFERÊNCIA	MATÉRIA-PRIMA	INÓCULO
Guimarães Filho (2003)	Banana Nanicao	<i>S. cerevisiae</i> CA – 1174
Silva (2004)	Banana Pacovan	fermento comercial
Lara (2007)	Banana Prata	fermento comercial prensado úmido ( <i>S. cerevisiae</i> )
Silva <i>et al.</i> (2009)	Banana Prata	fermento comercial
Paulino <i>et al.</i> (2009)	Banana Prata	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> meyen.
Alvarenga (2011)	Banana Prata e nanica	quatro linhagens de leveduras <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .
Hernández-Gómez <i>et al.</i> (2005)	Melão	levedura comercial ( <i>S. cerevisiae</i> )
Alvarenga (2006)	Manga	fermento comercial ( <i>S. cerevisiae</i> )
Munhoz <i>et al.</i> (2006)	Mexerica	levedura <i>S. cerevisiae</i> .
Silva Júnior <i>et al.</i> (2006)	Abacaxi	quirera de milho, fubá de milho e fermento prensado
Rocha (2008)	Fruta figo-da-índia (da palma forrageira)	levedura comercial e selecionada de algaroba
Asquieri, Silva e Cândido (2009)	Jabuticaba	levedura comercial ( <i>S. cerevisiae</i> )
Alves (2011)	Cajarana	fermento comercial ( <i>S. cerevisiae</i> )
Campos (2011)	Mel	levedura isolada ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> EEL 2009)
Vilhalva <i>et al.</i> (2013)	Casca de mandioca	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Guimarães (2013)	Sorgo sacarino	fermento comercial ( <i>S. cerevisiae</i> )

Guimarães Filho (2003) produziu aguardente de banana pela fermentação de banana variedade nanicao em estágio avançado de amadurecimento. A fermentação foi em bateladas sucessivas com reutilização do inóculo inicial (*S. cerevisiae* CA – 1174). Para a preparação do mosto, foram utilizadas as polpas das bananas, submetidas ao processo de aquecimento, de 90°C por uma hora. Em seguida houve um tratamento enzimático e inoculado a levedura. O mosto

fermentado foi filtrado em filtro prensa (prensa vertical em sistema de rosca giratória). A destilação do filtrado foi realizada em alambique de cobre.

Silva (2004) testou, em micro-escala, uma tecnologia simples para produção de aguardente de banana a partir de banana variedade Pacovan. A produção de aguardente de banana compreendeu as etapas de fermentação alcoólica, destilação, repouso e envase. No processo desenvolvido utilizou-se fermento prensado de panificação. O vinho (mosto fermentado) foi destilado em alambique de cobre simples, de um corpo só, aquecido a fogo direto (gás butano) e com sistema de refrigeração único nas serpentinas de condensação. As aguardentes recém destiladas foram filtradas em algodão e submetidas a um repouso de oito dias em barris de freijó. As aguardentes envasadas foram caracterizadas por meio de análises físico-químicas e cromatográficas, sendo constatado que, de todos os parâmetros previstos para legislação brasileira para aguardente de frutas, as concentrações de aldeídos e alcoóis superiores encontravam-se acima do limite tolerado. A aguardente de banana também foi submetida à análise sensorial (aceitação do aroma).

Lara (2007) produziu aguardente utilizando na polpa de banana tratamento enzimático com enzimas pectinolíticas. Observou um maior rendimento em extração do suco e uma diminuição da viscosidade do caldo, proporcionando maior rendimento em etanol. Para a fermentação foi utilizado fermento comercial prensado úmido (*S. cerevisiae*) e adicionada ao suco sulfato de amônio, conduzida em dornas de aço inox. Completada a fermentação, o vinho foi centrifugado e destilado em alambique de cobre.

Silva *et al.* (2009) tiveram como objetivo avaliar a hidrólise enzimática e comparar a qualidade físico-química e sensorial de aguardentes elaboradas com a polpa de banana e com a polpa e casca de banana (banana integral) *Musa cavendishi*, variedade prata. Foram realizadas análises de sólidos solúveis, açúcares redutores, amido e celulose para amostras de polpa de banana e banana integral com e sem hidrólise enzimática, análises físico-químicas e aceitação sensorial das aguardentes produzidas.

Paulino *et al.* (2009) objetivaram fornecer subsídios ao desenvolvimento de uma tecnologia adequada à produção de aguardente de banana pela fermentação

da banana variedade prata, de baixo valor comercial, devido ao estágio avançado de amadurecimento e/ou descartadas, estabelecendo padrões de qualidade para o produtor e de segurança para o consumidor. Os experimentos foram montados em um alambique experimental. Foi utilizado o sistema de fermentação em três bateladas sucessivas, sem reutilização do inóculo inicial de *Saccharomyces cerevisiae* meyen.

Alvarenga (2011) avaliou as condições de fermentação e destilação na produção de aguardente de banana, visando à adequação dos compostos secundários em relação à legislação vigente. Utilizou-se para a fermentação quatro linhagens de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. Foi realizada a hidrólise enzimática da polpa de banana com enzimas pectinolíticas, a filtração da polpa hidrolisada e a agitação dos frascos em escala laboratorial durante a fermentação. Foram produzidas aguardentes de banana prata e nanica em escala piloto com o mosto filtrado e não filtrado e realizados ensaios de sorção com carvão ativo nas aguardentes com o intuito de avaliar a redução de compostos voláteis indesejáveis. No estudo da destilação, foram realizadas destilações única e dupla, e foram quantificados os compostos secundários exigidos pela legislação brasileira, em nove frações ao longo do processo de destilação. A aguardente de banana produzida e uma aguardente de cana comercial foram avaliadas sensorialmente pelo teste de aceitação.

Alvarenga e Alvarenga *et al.* (2013) apresentaram a avaliação do processo fermentativo e a formação de compostos secundários em aguardentes de banana e manga. Foram avaliados os parâmetros de eficiência da levedura, rendimento em etanol e produtividade dos mostos de banana e manga. Para as aguardentes produzidas, foram conduzidas análises de teor alcoólico, acetaldeído, ésteres, alcoóis superiores totais, metanol e cobre. Os resultados indicaram que o mosto de manga apresentou melhores resultados para os parâmetros avaliados durante o processo fermentativo. As aguardentes de banana e manga apresentaram resultados para metanol e cobre acima do limite imposto pela legislação vigente. Adicionalmente, o teor de alcoóis superiores totais da aguardente de banana também esteve em desacordo com a legislação.

Hernández-Gómez *et al.* (2005) produziram aguardente de melão, utilizaram três diferentes substratos para a fermentação: suco de melão, polpa de melão sem pele e polpa de melão com pele, com inoculação de levedura comercial *S. cerevisiae*. Os fermentados foram bidestilados. Não houve aceitação de acordo com a avaliação sensorial da bebida.

Alvarenga (2006) em estudo sobre a produção de aguardente de manga Tommy Atkins, utilizou tratamento enzimático da polpa para aumentar o rendimento da extração do suco e reduzir sua viscosidade. Após a hidrólise, a polpa foi fermentada com fermento comercial *S. cerevisiae*. A aguardente de manga produzida atendeu aos parâmetros físico-químicos da legislação vigente, com exceção do cobre.

Munhoz *et al.* (2006) produziram aguardente de mexerica (*Citrus reticulata* Blanco). Utilizou-se para a fermentação do suco de mexerica a levedura *S. cerevisiae*. O fermentado foi destilado em destilador de cobre. Na avaliação sensorial, os provadores apreciaram o aroma, porém, o sabor residual amargo não foi aceito pela maioria dos provadores.

Silva Júnior *et al.* (2006) produziram, em laboratório, aguardente de abacaxi. Foram utilizados abacaxis da variedade pérola e o inóculo usado foi produzido a partir da mistura de quirera de milho, fubá de milho, fermento prensado e sulfato de amônio e magnésio, como nutrientes. Destilado em destilador de cobre. A aguardente de abacaxi produzida em pequena escala foi analisada e os resultados mostraram que atende aos padrões do MAPA.

Rocha (2008) estudou a produção e avaliação da composição físico-química da aguardente da fruta (figo-da-índia) da palma forrageira (*Opuntia ficus – indica* Mill) confrontando com a legislação vigente para bebidas. A metodologia consistiu na produção dos fermentados do fruto integral (casca e polpa) utilizando-se de um reator em operação batelada na temperatura de 30 °C e inoculando-se com levedura comercial e selecionada de algaroba. Os fermentados foram destilados em alambique de cobre. A produção de aguardente do figo-da-índia é uma das formas de valorizar a cultura da palma forrageira e contribuir para o desenvolvimento sustentável da região nordestina.



Asquieri, Silva e Cândido (2009) produziram aguardente de jabuticaba (com 39 °GL) a partir do subproduto da fabricação do fermentado da jabuticaba (casca e borra). A aguardente de jabuticaba atendeu aos parâmetros físico-químicos da legislação vigente. O vinho e a aguardente de jabuticaba é uma alternativa para aproveitar perdas pós-colheita.

Alves (2011) obteve uma aguardente a partir da cajarana (*Spondias sp*). Durante o processo de produção do destilado alcoólico, foi realizada a fermentação em dornas de aço, usando fermento comercial da marca Fleischman, contendo leveduras da linhagem *Saccharomyces cerevisiae*. Após 24 horas a fermentação não se completou. Mesmo com 2,5 ° Brix foi realizada a destilação do vinho em alambique de cobre; o destilado apresentou teor alcoólico de 28,94 °GL abaixo do permitido pela legislação; o destilado alcoólico apresentou alta concentração de cobre e metanol. Foram coletados 36,85 kg de cajarana e produzido 1100 mL (869 g) de destilado alcoólico, com rendimento de 2,36 %. Segundo o autor, o destilado alcoólico de cajarana, pode se tornar um produto de grande aceitação no mercado, mas necessita de um estudo de otimização

Campos (2011) estudou os parâmetros fermentativos na obtenção de aguardente de mel. O mel utilizado foi o mel de abelha, tipo silvestre. Foram isoladas 10 leveduras a partir de frutas e de mel. Como inóculo para a fermentação do mel utilizou-se a levedura isolada, identificada e nomeada *Saccharomyces cerevisiae* EEL 2009. Esta cepa, além de apresentar desempenho fermentativo satisfatório, apresenta a capacidade de flocular, o que contribui para o desenvolvimento do processo de fermentação por meio do sistema repetida, reduzindo o tempo de decantação. A aguardente de mel produzida apresentou características físico-químicas em conformidade com os padrões exigidos pela legislação para aguardentes de frutas. Segundo o autor, o mel é uma alternativa viável para a formulação de mosto para produção de aguardente no período de entre safra de cana-de-açúcar, contribuindo para melhor aproveitamento das instalações e como fonte alternativa de renda para o produtor rural.

Vilhalva *et al.* (2013) produziram aguardente a partir da casca de mandioca, pelos processos de hidrólise enzimática com  $\alpha$ -amilase, amiloglucosidase e xilanase, fermentação alcoólica com *Saccharomyces cerevisiae*. Foram determinadas as

características físico-químicas e sensoriais da aguardente produzida. A utilização dos resíduos da mandioca se mostrou adequada nos processos envolvidos, alcançando teor alcoólico de 43°GL, pH de 4,3 e acidez titulável de 0,0029g/100ml. Tais resultados apresentaram-se dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira para aguardentes. Os escores médios obtidos para aroma e aparência foram 6,2 e 8,18 respectivamente. Os resultados mostram que os processos envolvidos na obtenção da aguardente de resíduos de mandioca foram satisfatórios para a formulação de um produto com maior qualidade e valor agregado.

O sorgo sacarino foi avaliado por Guimarães (2013) como matéria-prima para produção de aguardente. Os caracteres avaliados foram: toneladas de colmos por hectare, extração de caldo, sólidos solúveis totais do caldo extraído, pH do caldo, pH do vinho, acidez total do vinho, teor alcoólico do vinho, acidez volátil, alcoóis superiores, acetato de etila, cobre, carbamato de etila, álcool n-butílico, álcool metílico, aldeídos e cetonas. As variedades de sorgo sacarino apresentaram diferenças significativas em termos de produtividade e qualidade. A maioria das análises das aguardentes apresentou-se dentro dos limites especificados pela legislação. Algumas amostras apresentaram os compostos alcoóis superiores e cobre em quantidades acima do permitido pela legislação brasileira, mas estes caracteres são influenciados pelas condições do processamento. Para o parâmetro carbamato de etila, todas as amostras atenderam ao padrão legal exigido apresentando valores bem abaixo do permitido. Não foram detectados teores de metanol, cetonas e aldeídos como acroleína e furfural. Os resultados obtidos no presente trabalho mostram que as variedades de sorgo sacarino produziram matéria-prima com alto rendimento e qualidade para produção de aguardente.

Embora a produção de aguardentes no Brasil destine-se quase totalmente ao mercado interno, as exportações de cachaça vêm crescendo significativamente, já que a cachaça brasileira é o terceiro destilado mais consumido no mundo, atrás apenas do soju coreano e da vodka russa (ESTANISLAU *et al.*, 2002). A aguardente de cana (cachaça) é o destilado mais consumido no país e ocupa o segundo lugar entre as bebidas alcoólicas, ficando atrás somente da cerveja, seu consumo é quase 5 vezes maior do que o do whisky (348 milhões de litros) e da vodka (270 milhões de litros). (GOMES, 2014).

O consumo ainda é um hábito amplamente difundido especialmente entre a população de baixo poder aquisitivo visto ser uma bebida de preço relativamente baixo. Pesquisas em distintas regiões do país apontam que alterações na qualidade da aguardente têm resultado em uma melhor aceitação do produto não só pelos consumidores, como também por parte dos atuais não consumidores, além de propiciar condições para aumentar o volume de exportação. (MIRANDA *et al.*, 2007).

## 2.3 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

A fermentação é a principal etapa do processo de produção de aguardente. Nesta etapa o açúcar e outros compostos presentes no mosto são transformados em etanol, gás carbônico e outros produtos que são responsáveis pela qualidade e defeito do produto. Para cada molécula de etanol produzida ocorre a formação de uma molécula de gás carbônico. Entretanto, dependendo de como essa transformação seja realizada, pode-se obter maior ou menor quantidade de aguardente e produto de melhor ou pior qualidade. (SCHWAN e CASTRO, 2001).

Contudo, é sabido que a bioquímica da fermentação é mais complexa e envolve várias rotas metabólicas, sendo a via glicolítica a principal delas. Por exemplo, a primeira reação envolve a fosforilação da glicose para produzir a glicose 6-fosfato e esta reação é catalisada pela hexokinase. Já na segunda reação, de glicose 6-fosfato para frutose 6-fosfato e vice versa, ocorre ação da enzima glucose-fosfato-isomerase, a qual mantém um equilíbrio entre esses açúcares em torno de 3:1. Desta forma, ocorrem várias reações, até chegar ao etanol. (ROSE, 1977).

Teoricamente, a partir de 100g de glicose, obtém-se 51,11 g de álcool ou 64 mL, no entanto, na prática as células reservam parte destes açúcares, em torno de 5%, para o crescimento celular e formação de subprodutos da fermentação como ácido succínico, glicerol, entre outros, e desta forma 100 g de glicose produz em torno de 48,5 g de etanol ou 61 mL de etanol. (PACHECO, 2010).

Para a produção de vinho e/ou aguardentes normalmente as frutas não contêm naturalmente teores de açúcares necessários para obtenção final de teor alcoólico mínimo de 10% v/v de álcool exigido pela legislação brasileira. Desta forma, os mostos ou sucos devem ser 'chaptalizados', ou seja, deve ser realizada a

correção da deficiência de açúcar, o qual não deve conferir substâncias estranhas ao vinho, sendo a sacarose o carboidrato mais indicado. (RIZON e MIELE, 2005).

Além do adequado conteúdo de açúcares nos mostos a serem fermentados, outros parâmetros são importantes para a produção de vinho de qualidade e de acordo com a legislação, como o pH e a temperatura de condução do processo. A temperatura é possivelmente o parâmetro mais importante para a formação do etanol. Baixas temperaturas produzem vinhos com retenção de aromas, porém contribuem para um crescimento lento das leveduras prolongando o processo e aumentando a concentração de ácidos voláteis indesejáveis. Temperaturas acima de 33°C podem favorecer o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis. (GÓES e ZANGIROLAMI, 2005).

Quando se utiliza banana verde, o tempo de fermentação pode ser mais demorado, em torno de 72 horas, em função da degradação das dextrinas. O tempo de fermentação é condizente com o observado por Hammond *et al.* (1996), para a fabricação de etanol com banana verde e madura.

Os produtos primários e secundários são formados durante o transcorrer da fermentação. Os principais componentes da fração não álcool são: aldeído acético, ácido acético e ésteres, furfural e alcoóis superiores como o amílico, isoamílico, butílico, isobutílico, propílico e isopropílico (LIMA, BASSO, AMORIN, 2001). Segundo Crispim *et al.* (2000), esses produtos encontram-se em números superiores a uma centena. Em trabalho realizado por Boscolo *et al.* (2000), foram identificados em 25 cachaças nacionais de marcas conhecidas, 51 produtos (apenas entre alcoóis e ésteres).

Como produtos secundários podem ser citados o glicerol, o ácido succínico, os alcoóis superiores, os aldeídos, os ésteres e alguns ácidos (Valsechi, 1990). O metanol também é citado como composto secundário em aguardentes de frutas. Nestes destilados, este composto é resultante da hidrólise enzimática (pela pectina metilesterase) da pectina presente nas frutas (HANG *et al.*, 2008). O metanol é uma substância química tóxica (THE MERCK INDEX, 2001) que tem mostrado efeitos adversos na saúde humana.

Os processos de fermentação descontínua e contínua são os mais utilizados em fermentações alcoólicas. O convencional em batelada (descontínuo) é

comumente adotado pelos produtores de aguardente artesanal e consiste em colocar o inóculo e todo o meio a ser fermentado, juntos, na dorna de fermentação. O processo fermentativo ocorre em aproximadamente 24 horas. Após esse período o fermentado é destilado e o inóculo descartado. Esse método interfere significativamente no metabolismo das leveduras pelo fato de elas ficarem expostas a quantidades relativamente altas de etanol. (GUIMARÃES FILHO, 2003).

Segundo Yokoya (1995), geralmente os processos adequados para grandes unidades não se adaptam às pequenas fábricas por serem sofisticados demais, necessitando de investimentos maiores e controles elaborados não condizentes com pequenos produtores.

### **2.3.1 Inóculo**

O inóculo é uma suspensão de células de leveduras em concentração suficiente para garantir a fermentação de um determinado volume de mosto. Esta concentração deve estar por volta de  $10^6$  a  $10^7$  células/mL no início da fermentação e cerca de  $10^8$  células/mL no final. (NOGUEIRA, 2005). A escolha de uma levedura adequada à produção de aguardente vai depender basicamente da natureza do mosto, das condições industriais e das características desejáveis para o produto final. (JANZANTTI, 2004).

O processo fermentativo se inicia assim que a levedura entra em contato com o mosto e podem ser agrupados sob três pontos: a fase preliminar (pré-fermentação), caracterizada pela adaptação das leveduras e pela multiplicação celular; a fase da fermentação principal e tumultuosa com desprendimento abundante de gás e produção de etanol e fase de fermentação complementar ou pós-fermentação, onde se observa a redução brusca da atividade fermentativa. (CLETON e MUTTON, 2004).

O processo fermentativo possui peculiaridades observadas conforme o tipo de inóculo utilizado: fermento natural (chamado fermento caipira ou selvagem, no qual os microrganismos que irão atuar no processo fermentativo são oriundos da superfície da matéria-prima, passando para a parte líquida formando a microbiota do mosto); fermento selecionado (usualmente são isolados microrganismos a partir de

fontes naturais, como plantas, solo, frutas que apresentam boas características de fermentação); e o fermento biológico utilizado na panificação. A utilização deste deve ser evitada devido a não especificidade para bebidas alcoólicas, principalmente em função da baixa resistência ao etanol. (GUIMARÃES FILHO, 2003).

#### 2.3.1.1 Leveduras

As leveduras utilizadas na produção de bebidas alcoólicas devem apresentar características, tais como: alta tolerância ao álcool e bom rendimento; fermentar rapidamente o meio e, portanto, minimizar o risco de contaminações; produzir a melhor concentração e balanço de compostos secundários desejáveis para a qualidade da bebida. Devem ainda apresentar estabilidade genética e ao fim da fermentação, ser facilmente removidas do meio por floculação ou centrifugação. (OLIVEIRA, 2001).

##### a) *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*)

Na atualidade nos processos de produção do vinho utilizam cepas de *S. cerevisiae*, pois estas produzem fermentações mais rápidas e confiáveis, além de evitarem contaminações microbianas, desta forma, estas culturas são selecionadas tendo como base a característica de otimizar o processo e intensificar a qualidade da matéria-prima tendo como consequência um produto de melhor qualidade e de boa aceitabilidade. Além disso, *S. cerevisiae* são produtoras de etanol, mais tolerantes aos produtos da fermentação e mudanças de pH no decorrer do processo fermentativo. (DUARTE *et al.* 2010).

##### b) *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*)

É uma cepa tropical de levedura (fermento), inicialmente isolada dos frutos da lichia e do mangostão, pelo cientista francês Henri Boulard em 1923. É não-patogênica, não-sistêmica (permanece no trato gastrointestinal em vez de espalhar-se por outras partes do corpo) e cresce mesmo sob temperatura incomumente alta de 37°C. (KOTOWSKA, ALBRECHT e SZAWSKA, 2005).

*S. boulardii* é classificada como um probiótico. Apresenta-se comercialmente na forma liofilizada e, por isso, é frequentemente referido como *Saccharomyces boulardii* lyo. (KOTOWSKA, ALBRECHT e SZAWSKA, 2005). Também tem sido

relatada como produtora de etanol. Lourens-Hattingh e Viljoen (2001) verificaram diminuição do crescimento do *S. boulardii* em iogurte de frutas, na temperatura de 5°C e relacionaram à diminuição nas concentrações de glicose e frutose, bem como, pela produção 5,9% de etanol.

c) *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*)

*Candida tropicalis*, espécie de fungo pertencente ao gênero *Candida* e a ordem *Saccharomycetales*. N'GUESSAN *et al.* (2011) investigaram a diversidade e dinâmica de leveduras envolvidas na fermentação alcoólica de uma cerveja de sorgo tradicional da Côte d'Ivoire, a tchapalo (na Costa do Marfim). As espécies mais freqüentes associadas a fermentação da tchapalo foram *S. cerevisiae* (87,36%), seguido de *C. tropicalis* (5,45%) e *M. caribbica* (2,71%).

d) *Kluyveromyces marxianus* (*K. marxianus*)

*K. marxianus*, espécie de levedura do gênero *Kluyveromyces*, e é a forma sexual (teleomorfo) de *Candida kefir*.

Para LANE e MORRISSEY (2010) a levedura *Kluyveromyces marxianus* é de particular interesse para aplicação industrial por incluir a taxa mais rápida de crescimento de qualquer microorganismo eucariótico, tem termotolerância, com capacidade de assimilar uma grande variedade de açúcares, com secreção de enzimas líticas, e produção de etanol por fermentação.

e) *Pichia kluyveri*. (*P. kluyveri*)

A cepa *Pichia kluyveri* garante um início seguro e confiável para fermentação alcoólica em vinhos brancos, roses ou tintos. Dá aos enólogos a oportunidade para impulsionar sabores de frutas, otimizando a conversão de solúveis derivados de uva, precursores de aromas de frutas em sabores voláteis, aumentando a intensidade de aroma dos vinhos, em seu espectro e longevidade. (ANFANG; BRAJKOVICH; GODDARD, 2009).

No entanto, o crescimento da *Pichia kluyveri* é inibido sob elevadas concentrações de etanol. Portanto, o inóculo deve ser misto, ou seja, em conjunto

com uma *Saccharomyces cerevisiae* para conseguir uma fermentação alcoólica segura, sem dificuldades, segundo o fabricante FrootZen <sup>TM</sup>.

f) *Hanseniaspora* sp.

A *Hanseniaspora* sp. também é utilizada em fermentação alcoólica. A combinação de duas leveduras *H. guilliermondii*, *H. uvarum* para a produção de vinhos, resulta numa composição final de poucos produtos voláteis sulfurosos. É necessário utilizar com outra levedura para terminar a fermentação alcoólica. (MOREIRA *et al.*, 2008)

PIETROWSKI *et al.* (2012) avaliaram o perfil aromático de fermentado de maçã, cidra, obtido pela ação de cepas de *Hanseniaspora uvarum* e *Hanseniaspora guilliermondii*. Os resultados obtidos confirmam que as estirpes do género *Hanseniaspora* contribuíram positivamente para o perfil de aroma do fermentado de maçã, produzindo quantidades consideráveis de ésteres e alcoóis superiores.

## 2.4 DESTILAÇÃO

A destilação é uma técnica muito antiga, usada pelos chineses há muito tempo atrás, 3000 anos A.C., sendo que inicialmente, o líquido obtido, era utilizado para fins medicinais e na produção de perfumes.

Embora os Egípcios tivessem sido os primeiros a construir alambiques, cujos desenhos representam um velho templo de Mênfis, foi da língua Árabe que nasceram os termos alambique (*al ambic*) e álcool (*al cóhol*), significando, o primeiro, vaso destilatório, e, o segundo, embora querendo designar um pó muito duro à base de chumbo ou antimônio, exprime a ideia de tênue e subtil, significando vapores de destilação. Com a expansão do Império romano a aguardente chega a Europa e ao Oriente Médio. Sendo assim, os árabes desenvolveram os primeiros equipamentos para destilação, os famosos alambiques, semelhantes aos utilizados até hoje. A partir daí a aguardente vai parar nas mãos dos alquimistas que atribuem a ela propriedades místico-medicinais (água da longevidade, elixir da longevidade). (LÉAUTÉ, 1990).



Mas foi na Idade Média, em 1250, que Arnaut de Villeneuve (1235-1315), na França, estudou a destilação do vinho e descobriu o espírito (*l'esprit*) que ele contém, seguindo-se um seu contemporâneo, Raymond Lulle, que preparou a aguardente (*l'eau ardente*), obtendo-a após 3 a 4 destilações consecutivas, em fogo muito lento; o espírito do vinho foi designado *quintessence*, sendo as quatro primeiras essências a Terra, a Água, o Ar e o Fogo. A partir de 1730, torna-se habitual o 'envelhecimento' das aguardentes para delas se retirar o melhor proveito, pois melhoram e ficam mais apuradas, mais penetrantes e com uma cor mais atrativa. No decorrer do século XX, houve uma evolução no sentido de se obterem alcoóis de bom gosto e aroma, generalizando-se o consumo de aguardentes puras. Dado o interesse na produção de um produto de qualidade, desenvolveram-se alambiques que evitassem destilações sucessivas e as próprias técnicas tornaram-se cada vez mais sofisticadas. (LÉAUTÉ, 1990).

Após a fermentação, o mosto passa a ser chamado de vinho, o caldo de banana fermentado, também denominado vinho de banana, segue para etapa de destilação. (ALVARENGA, 2011). Compõe-se de água e álcool etílico em maiores proporções, e muitos outros compostos que constituem a chamada 'fração não álcool', ou também denominada 'componentes secundários', substâncias essas responsáveis pelo sabor e aroma da aguardente. (BIZELLI, RIBEIRO e NOVAES, 2000).

No processo de elaboração de bebidas alcoólicas fermento-destiladas, a etapa de destilação separa, seleciona e concentra pelo uso do calor a fração dos componentes oriundos da fermentação do mosto. Assim, a composição das bebidas depende em grande parte da forma pela qual é conduzida a etapa de destilação. (ALVARENGA, 2011).

Na destilação do fermentado distinguem-se usualmente três frações em função do grau de volatilidade (CASSINI, 2004; MAIA, 2006; CARDOSO, 2006; LARA, 2007; SOUZA, 2009, ALVARENGA, 2011):

- a) O destilado de cabeça – “cabeça” – que corresponde às primeiras frações recolhidas. É constituída pelas substâncias de maior volatilidade como o metanol, acetaldeído e acetato de etila. Corresponde de 5 a 10% do destilado. A

cabeça corresponde a 1% do total do vinho fermentado e possui teor alcoólico superior a 60 °GL.

- b) O destilado de coração – “coração” – que é a porção destilada que corresponde à aguardente. Representa cerca de 16% do volume total do vinho, 80% do destilado. A fração coração é mais apreciada e possui menor quantidade de substâncias indesejáveis constituindo a melhor porção do destilado.
- c) O destilado de cauda – é a última porção destilada, obtida quando a destilação não é interrompida após obtenção da aguardente. Também conhecida como “água fraca”, que corresponde a 3% do volume total do vinho. A cauda é formada por compostos com pontos de ebulição maiores que 100°C (quando puros) e é obtida quando a destilação não é interrompida após a obtenção da aguardente. Na cauda são encontrados ácidos como o capríco, caprílico e cáprico que possui aromas parecidos com o de sabão.

Na destilação, a qualidade da aguardente depende fundamentalmente da composição do vinho encaminhado à destilação; da geometria do alambique ou coluna de destilação, para assegurar um nível de refluxo que permita a separação adequada dos componentes secundários e da habilidade do operador para efetuar os cortes nos momentos adequados. Uma correta separação, durante a destilação das frações cabeça, coração e cauda, contribui para melhorar a qualidade do produto, minimizando os metabólitos tóxicos. (MAIA, 2006).

Os aparelhos de destilação usados na elaboração de bebidas destiladas são, em sua maioria, constituídos de cobre. O cobre, metal bastante maleável, é resistente ao desgaste físico, bom condutor de calor, e apresenta grande influência na formação de sabor e aroma do produto final. (FARIA *et al.*, 2003).

A utilização de alambiques de cobre é muito difundida na obtenção de destilados, devido à facilidade de manipulação, solidez mecânica e a durabilidade do material. As razões para seu uso são controvertidas, alguns autores atribuem ao cobre um papel de catalisador durante o processo de destilação da aguardente. A ausência de cobre no destilador pode produzir um defeito sensorial com aroma sulfurado no produto final. (FARIA *et al.*, 2003).

A legislação, Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, no parágrafo primeiro, estabelece que a destilação deva ser efetuada de forma que o produto

obtido preserve o aroma e o sabor dos elementos naturais voláteis contidos na matéria-prima e daquele formados durante a fermentação. (BRASIL, 2009). É vedada a adição de qualquer substância ou ingrediente após a fermentação ou introduzido no equipamento de destilação que altere as características sensoriais naturais do produto. (BRASIL, 2005).

## 2.5 AROMA

### 2.5.1 Definições e histórico

A aceitação dos alimentos e bebidas está diretamente relacionada ao seu sabor. O aroma (*flavor*), em particular, está entre os principais atributos que determinam a escolha e o consumo de alimentos e bebidas. Aroma é a sensação percebida pelos sentidos do gosto e olfato, produzida quando se ingere o alimento. (CHIAPPINI, 2007). Quando um alimento é consumido, a interação das sensações de sabor, odor e textura produzem uma impressão global que é definida pela palavra inglesa *flavor*. Os aromas podem ser considerados como os constituintes voláteis do *flavor*. (SOARES, 1998).

*Flavors* apresentam não apenas características sensoriais, mas outras características desejáveis como atividade antibacteriana, antifúngica e antiviral; atividade antioxidante; redução de gordura; regulação da pressão arterial; propriedades anti-inflamatórias. (BERGER, 2009).

A sensação do gosto é atribuída à presença de compostos não-voláteis nos alimentos (açúcares, sais, ácidos), determinando os quatro gostos básicos descritos como doce, salgado, ácido e amargo. Entretanto, de acordo com Dutcosky (1996) existe o reconhecimento, por parte de alguns pesquisadores de um quinto gosto básico o 'umami'. A palavra umami é de origem japonesa e pode ser traduzida como delicioso ou saboroso. É importante ressaltar que o umami é um gosto e não um sabor. Basicamente três substâncias são responsáveis por proporcionar o quinto gosto básico, o ácido glutâmico, o inosinato e o guanilato, que podem ser encontradas naturalmente em determinados alimentos, sobretudo os ricos em proteína. (UMAMI INFORMATION CENTER, 2015).

Os compostos voláteis, responsáveis pelo aroma, encontram-se presentes em quantidades muito reduzidas nos alimentos. (FRANCO e JANZANTTI, 2004; ABNT, 1993). No aroma existem compostos de impacto e compostos contribuintes, mas são os de impacto que irão ditar a maior porcentagem de compostos que perfazem o aroma característico do alimento. (GARRUTI, 2003). O aroma final é um resultado da combinação de diversas moléculas voláteis, sendo que uma delas em geral predomina sobre as demais. (PANDEY *et al.*, 2008).

Na Europa medieval e renascentista, ervas e especiarias eram largamente usadas para dar sabor ao alimento. Enquanto as ervas eram facilmente acessíveis a todos, as especiarias eram artigos de luxo provenientes do lendário Oriente. As especiarias foram introduzidas, na Europa, pelos cruzados que adquiriram o gosto por elas durante suas estadas na Terra Santa e a pimenta, o gengibre, o cravo-da-índia, a canela e a noz-moscada tornaram-se rapidamente ingredientes essenciais da culinária ocidental da classe alta. Assim, os banquetes eram eventos fartos e generosamente condimentados. Ao passo que os camponeses dispunham de refeições simples, em geral sopa de verduras, pão e cervejas e temperos simples, como o hortelã, alho e cebola. Além das carnes condimentadas, outros pratos eram preparados com especiarias: os cozidos de frutas, mingaus, pudins e tortas. As bebidas – cervejas e vinhos – eram aromatizadas. (PULLAR, 1970).

Nesse festim de aromas, as flores tinham um papel importante a desempenhar. A água de rosas era usada para perfumar uma variedade de pratos. As violetas davam uma doce fragrância aos cozidos. Várias flores, em especial rosas e cravos, davam um buquê especial aos vinhos. Rosas e violetas eram adicionadas a pudins, tortas e bolos, ou cristalizadas usadas como guarnição. Usava-se a flor de laranjeira, flor de acácia-meleira e prímula. Um prato agridoce muito apreciado consistia em prímulas moídas, amêndoas, farinha de arroz, leite de amêndoas, mel e açafraão, tudo fervido a fogo lento e polvilhado com gengibre em pó. (AUSTIN, 1964).

Durante o século XIX, avanços na química orgânica tornaram possíveis que substâncias aromatizantes fossem sintetizadas e adicionadas aos produtos alimentícios. (CHIAPPINI, 2007). Os aromas eram usados para adicionar gosto e fragrância às balas, variedades de doces e bebidas, e fornecer substitutos baratos para certas especiarias. Os engenheiros de aromas eram, assim, modestos no

tocante às suas realizações. O boletim de uma companhia de aromatizantes da década de 50 diz: “Temos o orgulho de anunciar o nosso novo aperfeiçoamento no aroma e sabor de cereja; é claro, ainda não está à altura da Mãe Natureza.” (RINDISBACHER, 1992). O mesmo autor transcreve, de um artigo publicado na revista *Smithsonian*, as palavras do chefe do laboratório de aromas da *International Flavors & Fragrances Inc.* “Acho que é o melhor aroma de murtilho feito até hoje. E não tem nele nem um pedacinho de murtilho.”

Avanços na simulação de aromas e sabores foram possibilitados pela invenção do cromatógrafo, que pode mapear os constituintes individuais de um determinado sabor ou aroma. Isso habilita os ‘flavoristas’ a identificarem os componentes de um aroma e sabor, e a reproduzi-los usando substâncias químicas conhecidas como ‘flavomáticas’. Nem todos os componentes ou “notas” presentes num aroma e sabor naturais são reproduzidos, apenas os considerados essenciais ao seu aroma e sabor característicos – talvez 25 de um total de centenas. De fato, ao enfatizarem certas notas de sabor e aroma e minimizarem ou eliminarem outras, os flavoristas podem criar aromas e sabores mais agradáveis – pelo menos para os gostos modernos – do que os originais. (CLASSEN, HOWES e SYNNOTT, 1996)

As legislações norte-americana e europeia referem-se aos compostos de aroma naturais àqueles obtidos por processos físicos (extração de suas fontes naturais) ou por processos enzimáticos e microbianos que envolvem precursores isolados na natureza, sendo que o composto obtido deve ser idêntico ao já existente na natureza para que a substância seja legalmente rotulada como natural. (SERRA; FUGANTI; BRENNAN; 2005).

A maior parte dos compostos de aroma é produzida pela síntese química ou extraídos de matéria natural. Entretanto, pesquisas recentes do mercado demonstram que os consumidores preferem produtos alimentícios que possam ser considerados ‘naturais’. (ROSSI *et al.*, 2009). O aroma natural para FTA (*Food and Drug Administration*) deve ser produzido a partir de matérias-primas naturais e o produto final deve ser idêntico àquele encontrado na natureza. (ARMSTRONG *et al. apud* MEDEIROS, 2003, p. 7).

Jordán *et al.* (2001), estudando a essência de banana e compostos presentes na banana *in natura*, constataram muitas diferenças na composição dos

compostos voláteis entre ambos. Alguns compostos presentes na fruta não foram constatados em produtos com essência e vice-versa. Quando encontrados em ambos, estavam presentes em concentrações diferentes. Enquanto a fruta apresentava-se com 5 tipos de alcoóis, na essência encontraram-se 16 e, para ésteres, 16 na fruta contra 20 na essência.

Sob o ponto de vista analítico, muitas das substâncias de maior relevância aromática estão em níveis muito baixos. Traços de ácidos graxos como o hexanóico, octanóico, decanóico e seus ésteres correspondentes de etila, são produtos do metabolismo das leveduras. Outros compostos como o etil fenol, etil catecol e etil guaiacol são habituais e desejáveis, caso estejam em quantidades muito pequenas contribuem com características doce-amargas do aroma e são muito interessantes. (PICINELLI *et al.*, 2002).

As moléculas de aromas apresentam diferentes funções químicas e grupos reativos, como por exemplo, alcoóis, aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, lactonas, pirazinas, terpenos, compostos sulfurados, pironas e furanos, QUADRO 11. (PINHEIRO e PASTORE, 2003).

**QUADRO 11: Algumas classes de compostos voláteis e seus respectivos aromas.**

CLASSE	COMPOSTO	AROMA
Alcoóis	2-metil-butanol	fermentado, gorduroso
	3-metil-butanol	fresco, éter, frutado de banana
	2-hexen-1-ol fruta,	frutado doce
	cis-hexen-1-ol	grama fresca cortada
Aldeídos	Acetaldeído	pungente, nota de noz, alcoólico quando diluído
	(S) 2-metil-butanal	pungente, fruta, fresco
	Hexanal	fruta não amadurecida
	n-octanal	amargo, fruta cítrica
Ácidos carboxílicos	(S) ácido-2-metil- butanóico	fruta, doce
	(R) ácido-2-metil-butanóico	queijo, adocicado
Ésteres	Acetado de isobutila	frutado de doce de banana
	Acetato de etila	éter, conhaque
	Acetato de hexila	frutado doce de banana, de maçã verde
	Acetato de isoamila	fruta doce de banana
	Butanoato de etila	fruta remanescente de abacaxi
	Dodecanoato de etila	gorduroso, oleoso, floral
	Octanoato de etila	fruta, doce de banana, de damasco, de pêra
	Propionato de etila	fruta lembrando rum, doce
	Valerato de etila	forte, fruta, maçã

FONTE: Adaptado de PINHEIRO e PASTORE (2003).

Segundo GATFIELD (1995) e PINHEIRO e PASTORE (2003), os compostos químicos responsáveis pelos aromas característicos são: alcóóis, ácidos, ésteres,

cetonas, lactonas, aldeídos, e outras moléculas complexas que resultam do metabolismo secundário de plantas ou podem ser obtidas de fontes animais. Certos fungos, leveduras e bactérias, igualmente, apresentam potencial para o metabolismo secundário e podem produzir aromas. (ARMSTRONG e BROWN, 1994; MANLEY, 1995; WELSH *et al.*, 1995).

Entre os compostos mais importantes na indústria de aromas de alimentos destacam-se os ésteres, que conferem diversos aromas desde flores e frutas a alimentos fermentados. Ésteres são produzidos em pequenas quantidades por alguns microrganismos. Os ésteres são compostos de aromas de frutas e nelas estão presentes em baixas concentrações (1 a 100 ppm). (MARQUES e PASTORE, 1999).

Vários compostos voláteis são relevantes na formação dos aromas: acetaldeído, acetato de etila, de isoamila, de propila, de isopropila, de isobutila, etanol, butirato de etila, etc, a maioria são alcoóis, aldeídos, ésteres e cetonas. Estes podem ser identificados a partir da utilização de diversas técnicas instrumentais de química orgânica, tais como cromatografia gasosa e espectrometria de massa. (JANSSENS *et al.*, 1992).

O acetato de isoamila é um dos compostos mais importantes na formação do aroma característico de banana madura. Além de ser utilizado como aroma, é utilizado nas formulações de tintas como um excelente solvente ativo. Atua como auxiliar na eliminação do “*blush*” ou branqueamento em formulações de lacas e tñneres, combinado com solventes de evaporação mais lenta, como acetato de butilglicol e etilglicol. É um líquido límpido, pouco solúvel em água e miscível com a maioria dos solventes orgânicos (OXITENO, 2007).

Autores como Noguero-Pato *et al.* (2009) relata a importância de determinar cada componente do aroma em um aroma global calculando valores de “OAV” (*Odour Activity Value*), que é a proporção da concentração de um componente individual pelo valor de “*threshold*” (concentração mínima que pode ser detectada pelo nariz humano). O “*threshold*” do acetato de isoamila é de 1,4 mg/L.

Para RODRIGUEZ-AMAYA (2003) muitos são os caminhos para a formação de voláteis que conferem o aroma/sabor típico dos alimentos, sendo que alguns envolvem a biossíntese; mas a maioria das reações é de clivagem/fragmentação de

precursores não voláteis; alguns se formam no alimento intacto, decorrente do metabolismo; outros se formam quando os tecidos são rompidos, liberando enzimas; ou após fermentação ou tratamento térmico.

A biossíntese de aromas é conhecida como 'síntese de novo', é a produção de aromas pela fermentação de nutrientes simples, como açúcares e aminoácidos. (MEDEIROS, 2003).

Nos alimentos várias rotas estão em ação simultaneamente, inclusive com interações entre produtos das diferentes rotas. (RODRIGUEZ-AMAYA, 2003).

Devido à delicadeza e complexidade da mistura que formam os aromas, os produtos alimentícios quando submetidos ao processamento tecnológico industrial, ou diferentes condições de temperatura, umidade e luz, podem provocar algumas alterações como oxidação dos componentes e reações térmicas, levando a ocorrência de transformações. (MARQUES e PASTORE, 1999).

Os componentes ativos sensorialmente estão com frequência presentes em pequenas quantidades ou ligados a outras substâncias. Os aromas gerados biologicamente são complexos e incluem larga faixa de polaridade, desde hidrocarbonetos apolares até compostos carbonílicos altamente polares. (CHIAPPINI, 2007).

A literatura mostra que muitos microrganismos podem sintetizar aromas. Compostos voláteis são geralmente metabólitos secundários, isto é, substâncias produzidas pelo microrganismo, mas que não são essenciais para o seu metabolismo. Os ésteres formados por fungos e leveduras são exemplos de metabólitos secundários. A produção de ésteres seria o mecanismo responsável pela remoção de ácidos e alcoóis da célula e do meio, pois se houvesse acúmulo desses compostos, poderia ser tóxico para a célula. As condições de cultivo, tais como composição do meio (fonte de carbono, nitrogênio e outros elementos), pH, tempo de fermentação, temperatura de incubação, agitação e aeração, foram identificados como fatores determinantes do tipo e da quantidade dos compostos de aromas produzidos, além da linhagem do microrganismo. Essas variáveis podem estar envolvidas nos mecanismos fisiológicos que influenciam os tipos e quantidades dos produtos formados pelos microrganismos (MARQUES e PASTORE, 1999).



Mosha *et al.* (1996) relatam que os altos índices de ésteres apresentados na cerveja de banana nos países africanos deve-se principalmente, ao éster, acetato de isoamila, que confere o aroma característico desta fruta. Segundo Wyllie e Fellman (2000), o substrato é o principal determinante da qualidade e quantidade da composição de ésteres, que resulta no perfil de aroma da banana. A quantidade de ésteres produzidos no fruto de banana madura parece ser limitada pelo suprimento de álcool precursor, tendo sido constatado serem mais reativos os alcoóis de 5 e 6 carbonos.

### 2.5.2 Análise de aromas

Na maioria das vezes, os compostos aromatizantes estão presentes apenas em “traços” em sistemas heterogêneos, dificultando o seu isolamento e a sua identificação.

O alimento é uma matriz susceptível a alterações, tendo-se assim a necessidade de utilização de instrumentos caros e sofisticados como a cromatografia a gás e espectrometria de massa (CG/EM), pois os aromas estão presentes em quantidades muito pequenas, são instáveis, e qualquer aumento na temperatura durante o reparo da amostra acarreta reações químicas modificando a composição original da amostra. (FRANCO e JANZANTTI, 2003).

A metodologia para avaliação do aroma compreende as seguintes etapas: isolamento dos compostos voláteis, separação dos compostos voláteis por cromatografia de alta resolução, análise sensorial e identificação dos compostos voláteis. (THOMAZINI e FRANCO, 2000).

O aroma pode ser bem representado pela composição dos voláteis do *headspace* (expressão adaptada para a fase gasosa em equilíbrio com a matriz do alimento). (JENNINGS e RAPP, 1983; FRANCO e JANZANTTI, 2004). A análise do *headspace* pode ser feita por *headspace* estático ou dinâmico. O *headspace* estático é a análise direta dos compostos voláteis que apresentam maior pressão de vapor em um sistema fechado. Essa técnica permite a detecção de poucos compostos voláteis, gerando cromatogramas muito “pobres”. (THOMAZINI e FRANCO, 2000; FRANCO e JANZANTTI, 2003). O *headspace* dinâmico é uma técnica que envolve a

passagem dos compostos voláteis do alimento através de um polímero poroso (Tenax, Chromosorb, Porapak, entre outros), com o auxílio de um sistema a vácuo (FRANCO e RODRIGUEZ-AMAYA, 1983) ou pela passagem de um gás inerte (JENNINGS e RAPP, 1983). Os compostos voláteis retidos no polímero podem ser eluídos com solvente ou dessorvidos diretamente no injetor do cromatógrafo. A técnica de *headspace* dinâmico, desde que padronizadas as condições de isolamento, permite a realização de análise qualitativa, quantitativa e sensorial dos compostos voláteis responsáveis pelo aroma do alimento. (BASTOS *et al.*, 1998).

A análise do *headspace* possui vantagens como: pouco manuseio da amostra e coleta contínua dos compostos voláteis realizada a vácuo. Envolve isolamento e enriquecimento dos voláteis em temperatura ambiente, evita a destruição da amostra, permite estudos qualitativos e quantitativos, alta reprodutibilidade, mantém a integridade química das moléculas e baixo custo. (FRANCO e JANZANTTI, 2003).

A associação de cromatógrafos a gás a espectrômetros de massa (CG-EM) permitiu o avanço na identificação dos compostos voláteis. Padrões puros e o índice de retenção de Kovats têm auxiliado na identificação dos compostos. (FRANCO e JANZANTTI, 2003).

Além do emprego de técnicas como cromatografia a gás e espectrometria de massa, as avaliações sensoriais devem ser correlacionadas com avaliações instrumentais a fim de produzir resultados com aplicações práticas. (BASTOS, DA SILVA e FRANCO, 1998).

## 2.6 AVALIAÇÃO SENSORIAL

De acordo com a divisão de avaliação sensorial do Instituto de Tecnologia de Alimentos (IFT – *Institute Food Technology*), a avaliação sensorial é definida como uma disciplina científica usada para medir, analisar e interpretar resultados das características dos alimentos e materiais como eles são percebidos, pelo sentido da visão, olfação, gustação, tato e audição. (PAL, SACHDEVA e SINGH, 1995). Para Stone e Sidel (1993) a análise sensorial é uma ciência multidisciplinar;

uma metodologia científica que tem como principal objetivo a quantificação e a identificação das características sensoriais de bebidas e alimentos.

A correlação da análise sensorial com a instrumental tem ganhado credibilidade e espaço, pois permite classificar produtos de acordo com algum critério e permite prever a qualidade sensorial a partir de medidas. (BASTOS *et al.*, (2002).

Para alcançar o objetivo de desenvolver produtos de ótima aceitabilidade sensorial devem-se identificar as propriedades e níveis, considerados bons pelos consumidores. Existe de fato grande número de combinações de características e de seus respectivos níveis que podem produzir alimentos que entrem no rol dos produtos altamente aceitáveis. Teoricamente existe um conjunto de propriedades sensoriais bem como um conjunto de atributos físicos e químicos (analíticos) que, se presentes em um produto específico, conduzirão a assim denominada ótima aceitação. (SCHUTZ, 1998). Para Oliveira e Benassi (2003), a análise sensorial tem se mostrado muito eficiente na avaliação da qualidade de alimentos pela habilidade para identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis, detectando particularidades do produto não medidas por outras técnicas, incluindo-se sua aceitação

Quatro grupos dividem os métodos sensoriais: discriminativos (ou de diferença), de sensibilidade, descritivos e afetivos. Os testes de diferença indicam se existe ou não diferença entre as amostras. Os testes de sensibilidade medem a habilidade de perceber, identificar e/ou diferenciar qualitativa e/ou quantitativamente um ou mais estímulos pelos órgãos dos sentidos. Os métodos descritivos são aplicados com o objetivo de se obter a descrição qualitativa e quantitativa das amostras. Já os testes afetivos têm como objetivo conhecer a opinião de um determinado grupo de consumidores em relação a um ou mais produtos. Um teste afetivo muito utilizado é o teste de aceitação, que avalia o quanto os consumidores gostam ou desgostam de um determinado produto. (MEILGAARD *et al*, 1988). Já os testes de preferência, determinam a preferência que o consumidor tem sobre um produto em relação a outro. (DUTCOSKY, 1996).

A análise sensorial descritiva é um dos métodos mais sofisticados para avaliação de produtos, utilizando uma equipe de provadores que desenvolve

descritores e emprega escalas para medida de suas intensidades, caracterizando e descrevendo atributos sensoriais das amostras estudadas. O uso da análise sensorial descritiva vem crescendo devido à sua aplicabilidade para controle de qualidade, desenvolvimento de produtos e processos e estudos de vida-de-prateleira. (MURRAY *et al.*, 2001).

Definir o objetivo do teste, o público-alvo e as características do produto devem ser levados em consideração para escolha da escala a ser utilizada no teste sensorial. Essa seleção da escala para usar em um determinado teste é um dos pontos a ser determinado antes da realização de um teste de aceitação. (STONE, McDERMOTT e SIDEL, 2004).

O uso da escala hedônica estruturada verbal de 9 pontos é um exemplo desse tipo de teste. É o método sensorial mais empregado para avaliar a aceitação, em função da facilidade e simplicidade de uso até por consumidores com instrução mínima (MEILGAARD, CIVILLE e CAR, 1991). Os resultados são avaliados através análise de variância univariada e teste de Tukey para médias. (STONE e SIDEL, 1985).

Considerando que o teste de aceitação utilizando escala hedônica pode medir, com certa segurança, o grau de gostar e a aceitação de um produto, é possível indicar o produto ou produtos com maior possibilidade de virem a se tornar sucessos comerciais. (GRIZOTTO e MENEZES, 2003).

As Escalas do Ideal permitem acesso à informação sobre qual seria a intensidade considerada como ideal pelo julgador. Como essas escalas podem não ser balanceadas ou não regularmente espaçadas dependentemente das intensidades específicas e conveniências para cada atributo na cabeça do consumidor, os dados obtidos não podem ser analisados pela média. Os dados devem ser analisados pelas percentagens dos provadores que responderam a cada categoria específica de cada atributo ou plotando a frequência das respostas em histogramas ou comparando a distribuição das respostas das amostras com as de uma amostra padrão ou de marca de sucesso pelo teste  $\chi^2$ . (MEILGAARD, CIVILLE e CARR, 1991). Outra opção de análise é estabelecer um valor mínimo de resposta para a categoria “ideal”. Um valor recomendado é 70%. (FERREIRA *et al.*, 2000).

A relação entre o homem e o alimento indica que existe um sentimento muito maior do que apenas comer para se alimentar; existem exigências estéticas e gustativas. O prazer em comer vai muito além de apenas suprir as necessidades de sobrevivência. Desse modo, a aceitação ou rejeição de um alimento e sua preferência dependem da informação sensorial recebida. (GARRUTI, 2001).

A qualidade é considerada pelo consumidor como a qualidade sensorial, pois são os atributos incluídos nessa categoria que o indivíduo pode avaliar por meio de seus próprios sentidos, ou seja, deve-se entender por qualidade não um conjunto de atributos necessariamente excelentes ou altamente desejáveis, mas sim, reconhecer que um atributo particular pode ser muito importante para determinados produtos e de nenhuma importância para outros. (QUEIROZ e TREPTOW, 2006).

Os testes sensoriais são incluídos como garantia da qualidade nas indústrias de alimentos e bebidas por diversas razões. Podem identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis, definirem características sensoriais importantes de um produto, serem capazes de detectar particularidades que não podem ser detectadas por procedimentos analíticos e serem capazes de avaliar a aceitação de produtos. (MUÑOZ *et al.*, 1992). A literatura sobre a qualidade sensorial de cachaça é escassa (CARDELLO e FARIA, 1998), porém, as crescentes exigências do mercado têm feito crescer a preocupação com a qualidade dessa bebida.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MICRORGANISMOS

A seleção de leveduras produtoras de etanol e compostos do aroma de interesse foi realizada utilizando cepas provenientes do Banco de Cepas do LPB/UFPR, uma levedura comercial e leveduras isoladas da banana.

##### 3.1.1 Leveduras do LPB/UFPR

Para início da pesquisa testou-se algumas leveduras disponíveis no Banco de Cepas do Laboratório de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia (LPB/UFPR). Foram testadas quanto à produção de etanol, em meio de caldo de cana (QUADRO 12).

**QUADRO 12: Relação das leveduras produtoras de etanol provenientes do banco de cepas do LPB/UFPR**

LEVEDURAS
<i>Candida utilis</i> LPB-291
<i>Saccharomyces uvarum</i> LPB-292
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> LPB-293
<i>Pichia stipitis</i> ATCC 5376
<i>Saccharomyces boulardii</i> LPB-295
<i>Candida tropicalis</i> LPB-297
<i>Candida tropicalis</i> CCT 1890
<i>Candida guilliermondii</i> CCT 2651
<i>Kluyveromyces marxianus</i> ATCC 10022
<i>Candida lipolytica</i> CCT 1095
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> Y 2547
<i>Schwanniomyces castellii</i> LPB-303
<i>Pachysolen tannophilus</i> LPB-304
<i>Pichia fermentans</i> ITD00165

Posteriormente, as leveduras com maior produção de etanol foram testadas em mosto de banana. Além da avaliação da produção de etanol, buscou-se,

também, na fermentação com banana, a produção do acetato de isoamila (aroma característico de banana).

As leveduras (QUADRO 12) foram repicadas em ágar YM e conservadas refrigeradas a 4°C.

### **3.1.2 Levedura Comercial**

Utilizou-se a cepa comercial CA-11, levedura *Saccharomyces cerevisiae* cedida pela empresa LNF Latino Americana (Bento Gonçalves, RS). Essa cepa é conhecida como produtora de etanol e foi testada para a produção de etanol e aroma de banana em meio de cultivo composto por banana com e sem casca.

### **3.1.3 Leveduras isoladas da banana**

Para o isolamento de leveduras da flora natural da banana, as bananas com casca foram moídas no liquidificador. A massa foi diluída em água peptonada a 0,1% e plaqueadas em ágar YM por semeadura tipo *pour plate*. As placas de Petri foram incubadas a 28° C por 24 horas.

Após o crescimento das colônias, estas leveduras foram transferidas para placas de Petri contendo meio de cultivo ágar Rose Bengal Cloranfenicol (RBC) (Sigma-Aldrich®), específico para leveduras pela técnica de estriamento para obter as colônias isoladas. Depois de isoladas, as colônias foram analisadas por microscopia, escolhendo as cepas com morfologia celular diferentes.

Com essas cepas foram realizados testes para verificar a produção de etanol e do aroma de banana e posteriormente foram realizadas análises para identificação.

#### **3.1.3.1 Identificação das leveduras isoladas**

Na identificação das leveduras isoladas a extração de DNA, amplificação das regiões ITS 4 e ITS 5 rDNA e a purificação de DNA para reação de seqüenciamento foram realizadas Laboratório de Biologia Molecular PPGE/UFPR (Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos da

Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR). O sequenciamento de DNA das amostras foi realizado pela empresa ACTGene Análises Moleculares Ltda. (Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS)

#### 3.1.3.1.1 Extração de DNA

A cultura saturada de levedura (20-24h de crescimento a 30°C) em meio YPD (1% extrato de levedura, 2% peptona, 2% dextrose) foi transferida 1,5 mL para um tubo de centrífuga. Foi realizada uma centrifugação com velocidade de 20000 x g, por 3 minutos. Após, adicionou-se 200 µL de tampão de lise (2% Triton X-100, 1% SDS, 100 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA). Homogeneizou-se em vórtex. (HARJU *et al.*, 2004).

O tubo foi imerso em banho de etanol-gelo por 2 minutos e foi transferido para banho a 95°C por 1 minuto, repetindo-se as 2 últimas etapas. Novamente homogeneizou-se em vórtex por 30 segundos. Adicionou-se 200 µL de clorofórmio e agitou-se em vórtex por 2 minutos. Levou-se para centrifugar, em temperatura ambiente a 20000 x g, por 3 minutos.

Transferiu-se a fase aquosa para um novo tubo com a adição de 2,5 V de etanol absoluto, misturou-se a solução por inversão. Incubada a temperatura ambiente por 5 minutos (incubação por esse tempo a -20°C, aumenta o rendimento, porém pode co-precipitar impurezas). Após centrifugação por 10 minutos a temperatura ambiente, a 20000 x g, descartou-se o sobrenadante. O precipitado foi lavado com 400 µL de etanol 70% e centrifugou-se por 5 minutos nas mesmas condições. O sobrenadante foi cuidadosamente removido por inversão (para preservar o pellet de DNA). O pellet de DNA foi seco em estufa a 50-60 °C

#### 3.1.3.1.2 Amplificação das regiões ITS 4 e ITS 5 rDNA

A região amplificada foi a *internal transcribed spacer* (ITS) pelo conjunto de *primers* ITS5 (5'→3', GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) e ITS4 (5'→3', TCCTCCGCTTATTGATATGC). (BELLEMAIN *et al.*, 2010).

Para reação de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) foram utilizados 2µL de DNA molde em uma solução mix com 0,4 µL dNTPs 10 mM, MgCl<sub>2</sub> 50 mM, 1,25 U



*Taq*Polymerase, 0,65 µL ITS 4 e 0,65 µL ITS 5, 2,0µL de Tampão Tris-HCl pH8 10X e 14 µL de água ultra pura.

As reações foram realizadas em 30 ciclos de desnaturação (95° C por 30 segundos), anelamento (46° C por 2 minutos) e extensão (72° C por 2 minutos), seguidos de uma extensão final de 72°C, por 10 minutos. Aplicou-se desnaturação inicial a 95° C por 10 min. Em seguida à reação da polimerase em cadeia realizou-se a visualização por brometo de etídio em um gel de agarose a 1,5%, em transluminador UV (Loccus Biotecnologia).

#### 3.1.3.1.3 Purificação de DNA para reação de seqüenciamento

Os produtos de PCR foram purificados conforme o protocolo de precipitação por acetato de amônio e armazenados a -20° C em tubo de 500 µL.

Foi adicionado 45 µL do produto de PCR, 30 µL de acetato de amônio 7,5 M (esterilizado por filtração 0,22µm) e 90 µL de etanol absoluto. O material foi homogeneizado em vórtex e centrifugado a 13000 rpm por 20 minutos a temperatura ambiente. O sobrenadante foi descartado para obtenção do *pellet*. Em seguida foram adicionados lentamente 200µL de etanol 70%, seguido de uma centrifugação a 13000 rpm por 15 minutos a temperatura ambiente, o sobrenadante foi descartado após este procedimento.

O material amplificado foi seco em estufa a vácuo a 45°C (10-15 minutos) e então dissolvido em 20 µL de água ultrapura.

Foi realizada eletroforese em gel de agarose 1,5% com 3 µL do DNA purificado para avaliação da eficiência do procedimento de purificação e subsequente envio para reação de sequenciamento.

#### 3.1.3.1.4 Sequenciamento de DNA

Para o sequenciamento das amostras foi utilizando o sequenciador automático ABI-PRISM 3100 *Genetic Analyzer* armado com capilares de 50 cm e polímero POP6 (*Applied Biosystems*).

Os DNA-moldes (30 a 45 ng) foram marcados utilizando-se 4,5 pmol do *primer* ITS4 ou do *primer* ITS5 e 3 µL do reagente *BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing RR-100* (*Applied Biosystems*) em um volume final de 10 µL. As reações

de marcação foram realizadas em termociclador *GeneAmp PCR System 9700* (Applied Biosystems) com uma etapa de desnaturação inicial a 96 °C por 3 minutos seguida de 25 ciclos de 96 °C por 10 segundos, 55 °C por 5 segundos e 60 °C por 4 minutos.

Uma vez marcadas, as amostras foram purificadas pela precipitação com isopropanol a 75% e lavagem com etanol a 60%. Os produtos precipitados foram diluídos em 10 µL de formamida *Hi-Fi* (Applied Biosystems), desnaturados a 95 °C por 5 minutos, resfriados em gelo por 5 minutos e eletro-injetados no sequenciador automático.

Os dados de sequenciamento foram coletados utilizando-se o programa *Data Collection v 1.0.1* (Applied Biosystems) com os parâmetros *Dye Set* “Z”; *Mobility File* “DT3100POP6{BDv3}v1.mob”; *BioLIMS Project* “3100\_Project1”; *Run Module 1* “StdSeq50\_POP6\_50cm\_cfv\_100”; e *Analysis Module 1* “BC-3100SR\_Seq\_FASTA.saz”.

### 3.2 PREPARO DO INÓCULO

O inóculo foi preparado transferindo uma alçada de leveduras para 50 mL de caldo YM, em frasco de Erlenmeyer de 250 mL fechados com tampão de algodão. O cultivo foi realizado em Shaker a 28° C, 120 rpm, por 24 h .

Após o tempo determinado, uma amostra foi coletada assepticamente, corada por azul de metileno e as células foram contadas em Câmara de Neubauer.

### 3.3 PREPARO DO MOSTO DE BANANA

A banana nanica (*Musa cavendishii*), proveniente do litoral do Paraná, foi adquirida no CEASA de Curitiba/PR. Utilizou-se banana com casca e sem casca com grau de maturação 5, 6, 7 e 8. As FIGURAS 4 a 5 ilustram as banana selecionadas para o preparo do mosto. As bananas foram submetidas à análise

cromatográfica para detectar os aromas da banana sem casca, banana com casca e da casca de banana.

**FIGURA 4: Pré-seleção das bananas**



FONTE: A Autora

**FIGURA 5: Bananas selecionadas para descascar**



FONTE: A Autora

Os recipientes utilizados foram previamente lavados com hipoclorito de sódio, secos e borrifados com etanol 70° GL, secados novamente e fechados. As bananas sem casca e com casca (separadamente) foram misturadas na proporção de 1:1 com água e trituradas em liquidificador.

A inativação microbiana dos mostos de bananas foi testada nas temperaturas de 50°C, 60° C, 70° C e 80° C nos tempos de 30 minutos e 40 minutos (FIGURA 6).

**FIGURA 6: Pré-tratamento do mosto**



FONTE: A Autora

A massa fria (FIGURA 7) foi repicada em meio YM Agar por estriamento em placas de Petri. As placas de Petri foram incubadas em estufa a 28°C e observadas diariamente se houve o crescimento de microrganismos.

**FIGURA 7: Aspecto do mosto após resfriamento**



FONTE: A Autora

### 3.4 SELEÇÃO DE LEVEDURAS

#### 3.4.1 Teste de Fermentação em caldo de cana

O caldo de cana foi utilizado para seleção das leveduras produtoras de etanol a partir do Banco de Cepas do LPB/UFPR (QUANDO 12).

O caldo de cana foi adquirido no comércio ambulante, no Mercado Municipal da cidade de Curitiba-PR.

A fermentação em caldo de cana foi realizada em frascos de Erlenmeyer (250 mL) contendo 50 mL de caldo de cana, sem ajuste de pH. A inoculação foi realizada conforme descrito em 3.2 com as 15 cepas provenientes do LPB/UFPR. Os frascos foram colocados em *shaker* a 28 °C e 120 rpm durante 24 horas. Após a fermentação, o fermentado foi submetido à análise cromatográfica. As leveduras que produziram os maiores teores de etanol foram em seguida testadas no mosto de banana.

### 3.4.2 Teste de fermentação em mosto de banana

Os testes de fermentações em mosto de banana foram realizados para verificar a produção das leveduras em etanol e acetato de isoamila.

As fermentações em banana com e sem casca, separadamente, foram realizadas em frascos de Erlenmeyer (250 mL) contendo 50 mL de mosto de banana. O preparo do mosto seguiu conforme descrito no item 3.3.

O pH natural do mosto era em torno de 4,5. O pH foi determinado com potenciômetro digital.

Os frascos foram fechados com tampão de algodão, colocadas em banho-maria com aquecimento a 70° C durante 40 minutos.

O inóculo foi de  $1 \times 10^7$  cel/ mL e a fermentação ocorreu a 20° C e 28° C. Foram testadas leveduras previamente selecionadas na fermentação com o caldo de cana, a cepa CA-11 e as leveduras isoladas, *Pichia* sp. e *Hanseniaspora* sp. Após a fermentação, o fermentado foi submetido à análise cromatográfica para determinação de etanol e demais compostos voláteis.

## 3.5 PRODUÇÃO DE AGUARDENTE

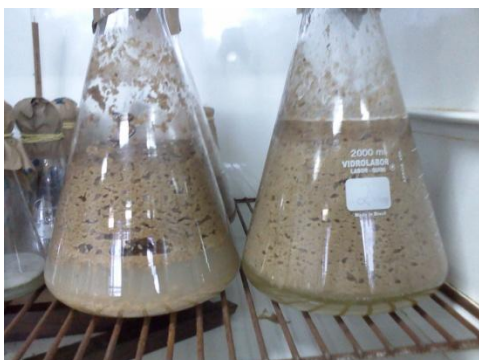
Para a produção da aguardente de banana, foram utilizadas bananas com casca e sem casca com grau de maturação 4, 5, 6 e 7. Os mostos foram preparados conforme metodologia descrita no item 3.3. Também se testou um mosto preparado somente com casca de banana. As cascas foram misturadas na proporção de 1:1 com água e trituradas em liquidificador. Adicionou-se 14 % de sacarose para correção deste mosto para iniciar o processo fermentativo, já que a casca de banana apresentava pouco açúcar redutor.

Após resfriamento do mosto, foram inoculadas as leveduras *S. cerevisiae*, *S. boulardii*, *Candida tropicalis*, *K. marxianus*, além da CA-11 (comercial) e as isoladas de banana *Pichia* sp. e *Hanseniaspora* sp. Nesta etapa foram utilizados erlenmeyers de 2 L, 6 L e galão de 20 L. No mosto preparado somente com casca, foi inoculada a levedura *Pichia* sp. Essa levedura foi apropriada na produção de acetato de isoamila, quando se realizou o teste de fermentação em mosto de casca de banana.

As fermentações foram conduzidas a 28° C. Após a fermentação (FIGURA 8) o mosto fermentado foi filtrado em tecido não tecido (TNT) (FIGURA 9). O retido (torta de levedura) foi descartado (FIGURA 11). O filtrado foi o vinho utilizado para a destilação (FIGURA 10).

A análise de voláteis foi realizada por amostragem do *headspace* dos frascos fermentados, do mosto fermentado e filtrado e das frações do destilado.

**FIGURA 8: Fermentado do mosto de banana**



FONTE: A autora

**FIGURA 9: Filtração do mosto de banana**



FONTE: A autora

**FIGURA 10: Filtrado do mosto de banana**



FONTE: A autora

**FIGURA 11: Torta de leveduras**



FONTE: A autora

### 3.6 TRATAMENTO ENZIMÁTICO DO MOSTO

O mosto de banana com casca utilizado na produção de aguardente, além do tratamento térmico, foi tratado enzimaticamente. As enzimas Ultrazym AFP-L (polygalacturonase e celulase) e Amylase AGXXL (gluco-amilase) foram fornecidas pela Novozymes. As fichas técnicas das enzimas encontram-se no ANEXO 2 e 3. Os testes seguiram a recomendação do fabricante.

### 3.6.1 Determinação da quantidade das enzimas

450 g de banana com casca foram trituradas em liquidificador, com 450 g de água deionizada esterilizada. A mistura assim preparada foi distribuída igualmente (100 g) em 9 frascos Erlenmeyer de 250 mL e submetida a tratamento térmico a 70°C durante 30 min.

Em seguida, os frascos foram resfriados até 50°C para a adição das enzimas de acordo com a TABELA 1, e mantidos nessa temperatura em banho-maria. Os experimentos foram realizados em triplicata.

**TABELA 1: Concentrações das enzimas Amylase e Ultrazym utilizadas.**

Ensaio	Ultrazym (mL/L)	Amylase (mL/L)
1	0,30	0,044
2	0,30	0,052
3	0,30	0,066
4	0,35	0,044
5	0,35	0,052
6	0,35	0,066
7	0,40	0,044
8	0,40	0,052
9	0,40	0,066

A partir da segunda hora de hidrólise, uma amostra de cada Erlenmeyer foi retirada e colocada em banho-maria fervente por 10 minutos, para a inativação da enzima. Esse processo de retirada de amostra foi repetido a cada 20 minutos até completar 3 horas e 20 minutos.

Todas as amostras foram analisadas em relação à quantidade de açúcar pelo método colorimétrico de Somogyi-Nelson (SOMOGYI, 1952), item 3.11.

### 3.6.2 Avaliação da influência da agitação na atividade enzimática

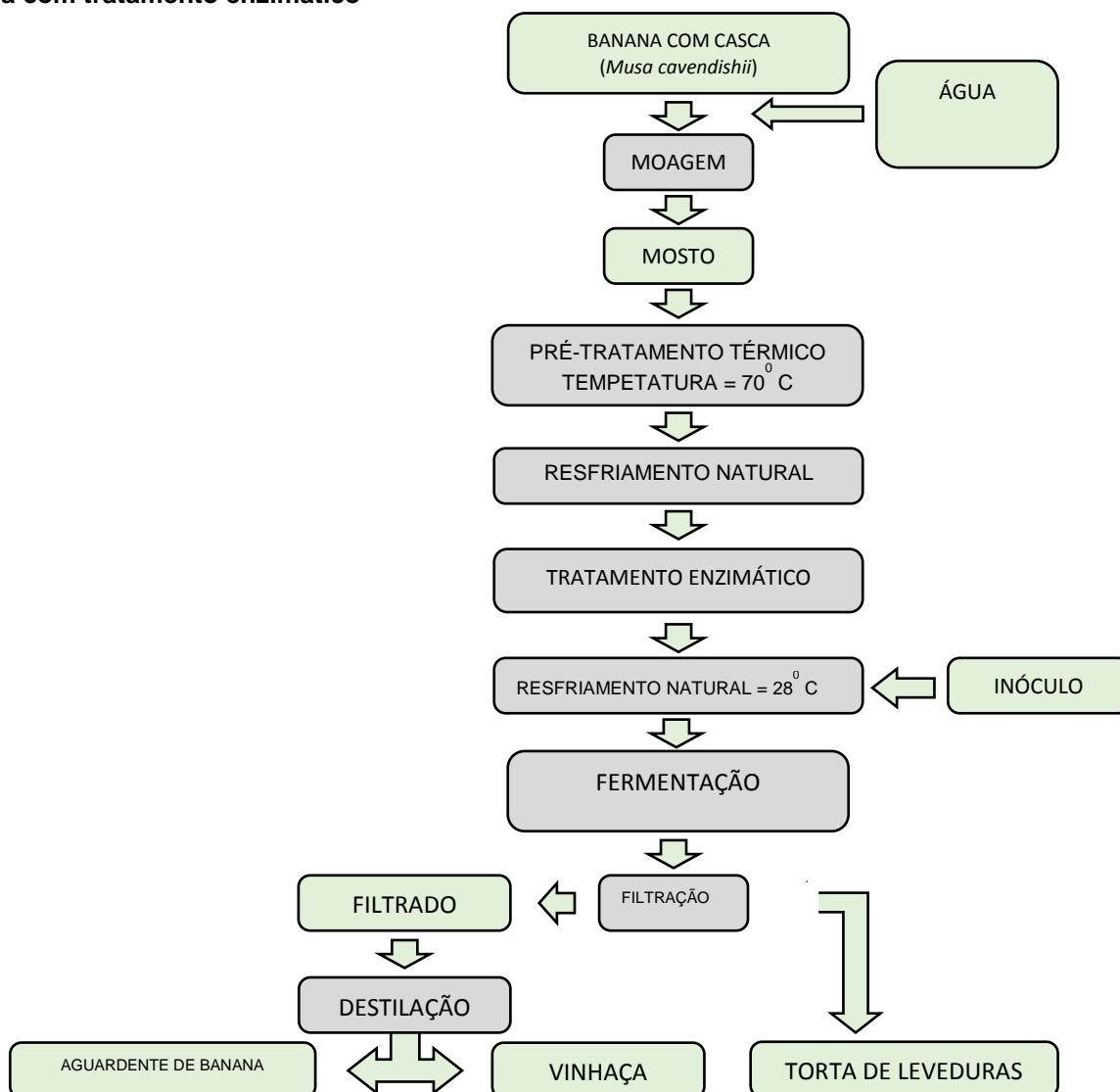
O experimento foi realizado utilizando o procedimento do experimento descrito no item 3.6.1, acrescido de agitação moderada e constante durante toda a hidrólise.

### 3.6.3 Avaliação da atividade enzimática na produção do etanol e acetato de isoamila

As condições ótimas obtidas nos itens 3.6.1 e 3.6.2 foram repetidas como mosto para a fermentação com inoculação das leveduras: *S. cerevisiae*, *S. boulardii*, *C. tropicalis*, *K. marxianus*, CA-11 (comercial) e as isoladas de banana A e B, nas

condições descritas no item 3.6.2. A FIGURA 12 apresenta o processo da produção de etanol e acetato de isoamila a partir de banana com casca com tratamento enzimático.

**FIGURA 12 - Fluxograma da produção de etanol e acetato de isoamila a partir de banana com casca com tratamento enzimático**



### 3.7 PRODUÇÃO DAS AGUARDENTES DE BANANA

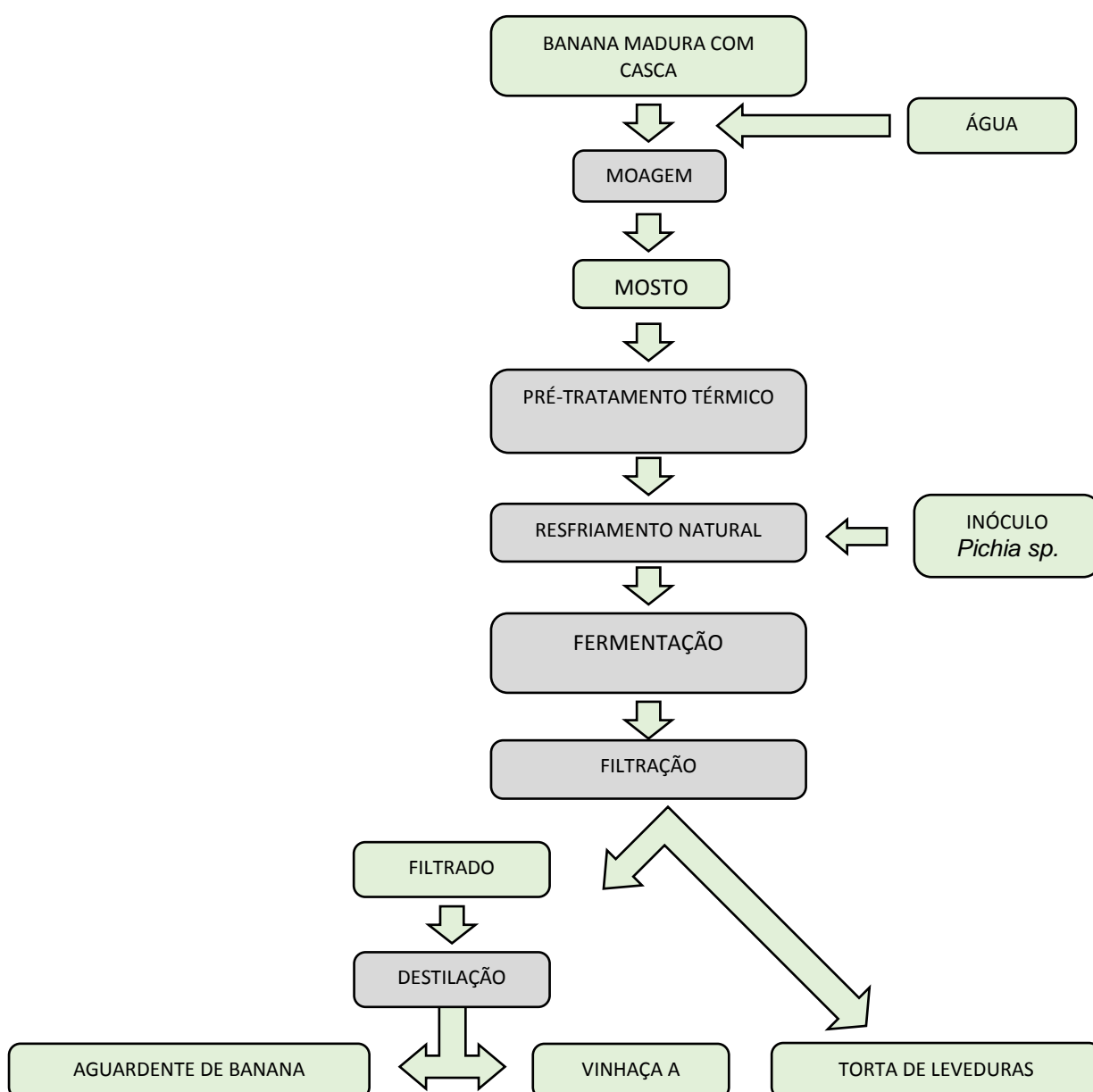
Nos ensaios preliminares foram definidas as condições para a produção da aguardente de banana, conduzidas sob diferentes formas de obtenção. Para cada aguardente obtida foram realizadas análises do tempo zero do mosto, mosto fermentado, filtrado e do destilado (cabeça, coração e cauda).



### 3.7.1 Produção da aguardente de banana com casca

As etapas do processo de produção de aguardente em mosto de banana (banana com casca), adição de inóculo de leveduras (*Pichia* sp. ou *Hanseniaspora* sp. ou *Saccharomyces boulardii* ou *Candida tropicalis* ou *Kluyveromyces marxianus*) seguiram as etapas descritas na FIGURA 13. Cada fermentação foi conduzida em bateladas independentes.

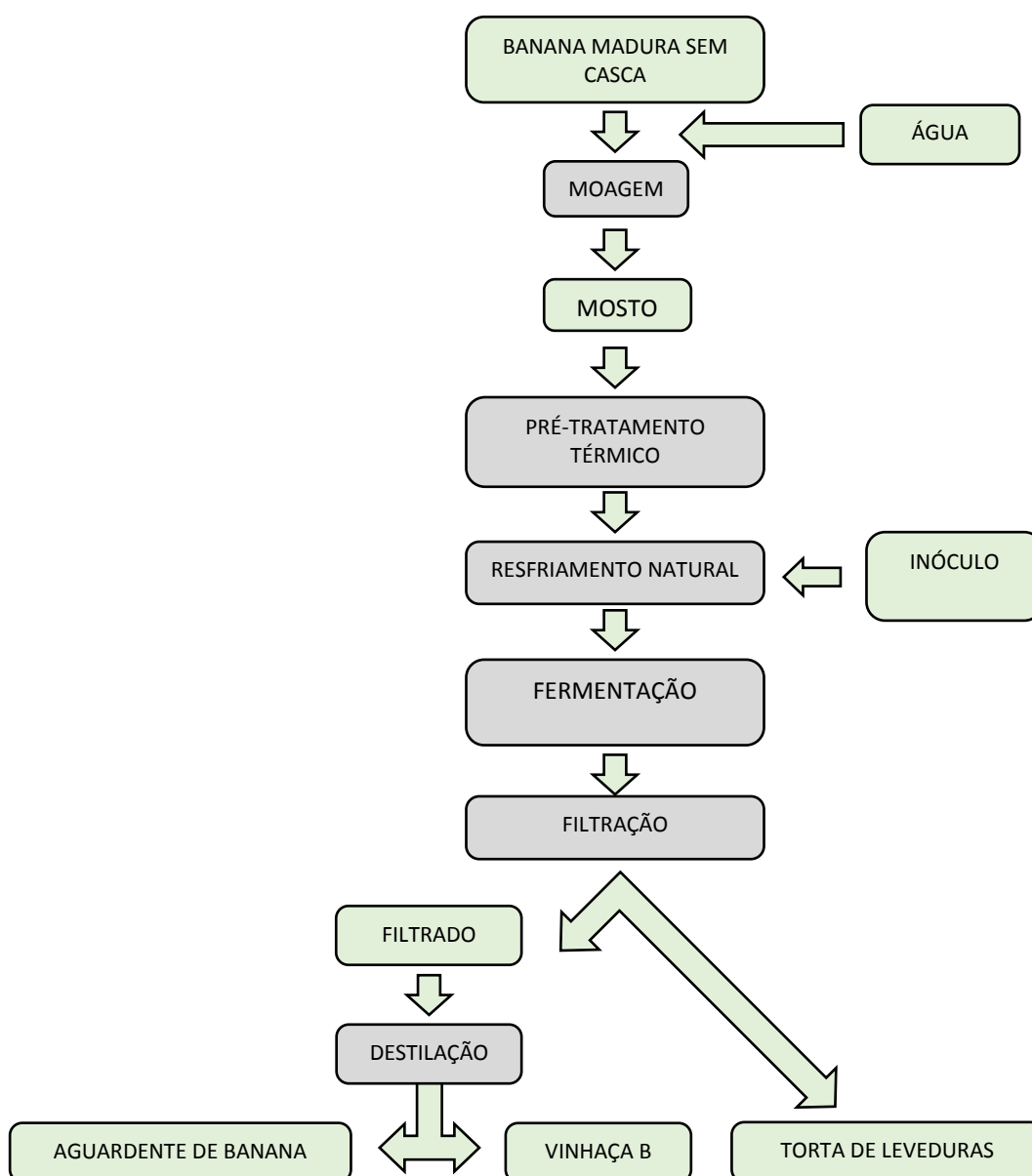
**FIGURA 13: Fluxograma da produção da aguardente de banana com casca**



### 3.7.2 Produção da aguardente de banana sem casca

As principais etapas do processo de produção de aguardente, em mosto de banana (banana sem casca), adição de inóculo de levedura comercial CA-11, conforme FIGURA 14.

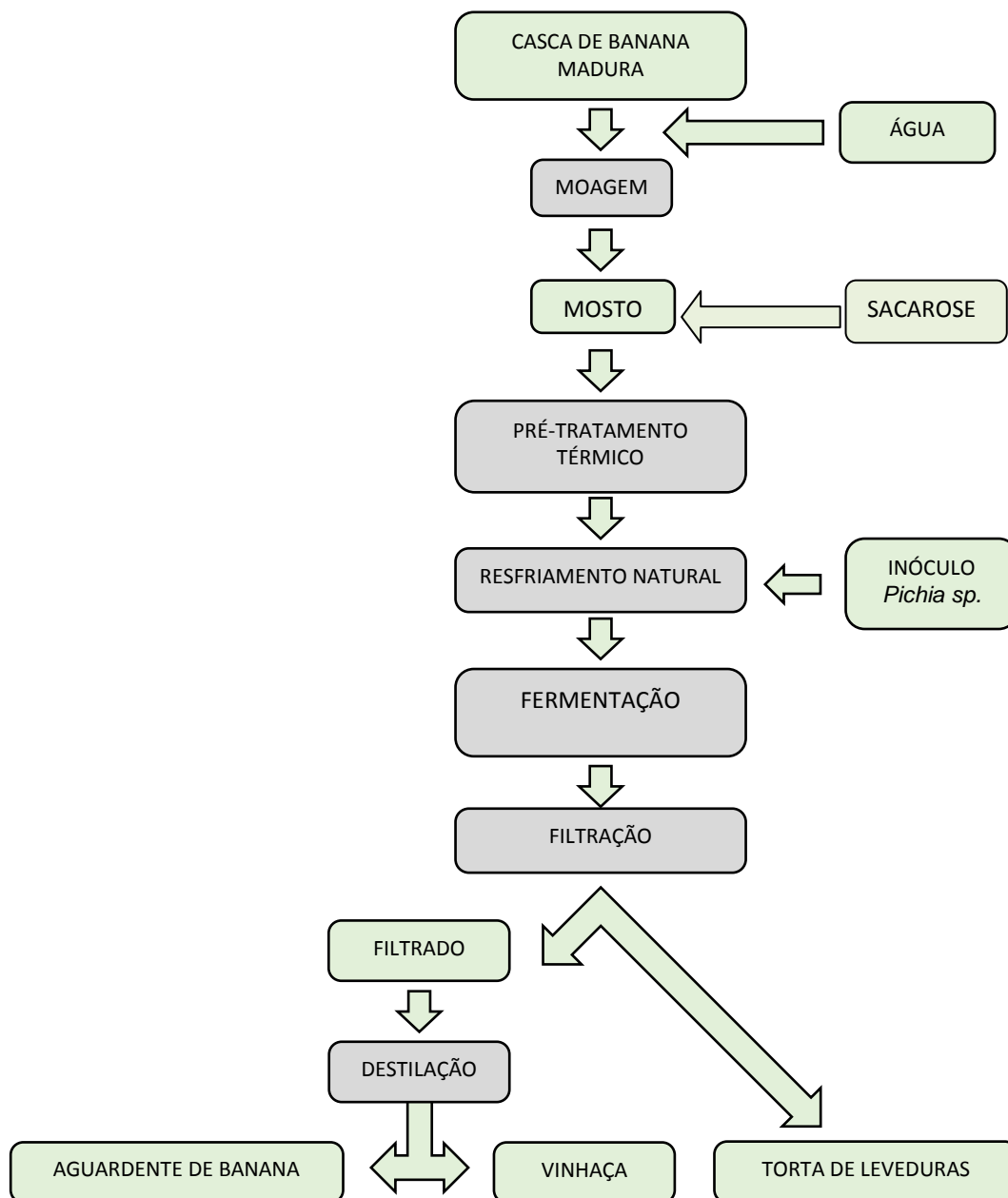
**FIGURA 14: Fluxograma da produção da aguardente de banana sem casca**



### 3.7.3 Produção da aguardente com a casca da banana

A produção de aguardente, em mosto casca de banana, com adição de sacarose e inóculo de levedura (*Pichia sp.*) seguiu o processo ilustrado na FIGURA 15.

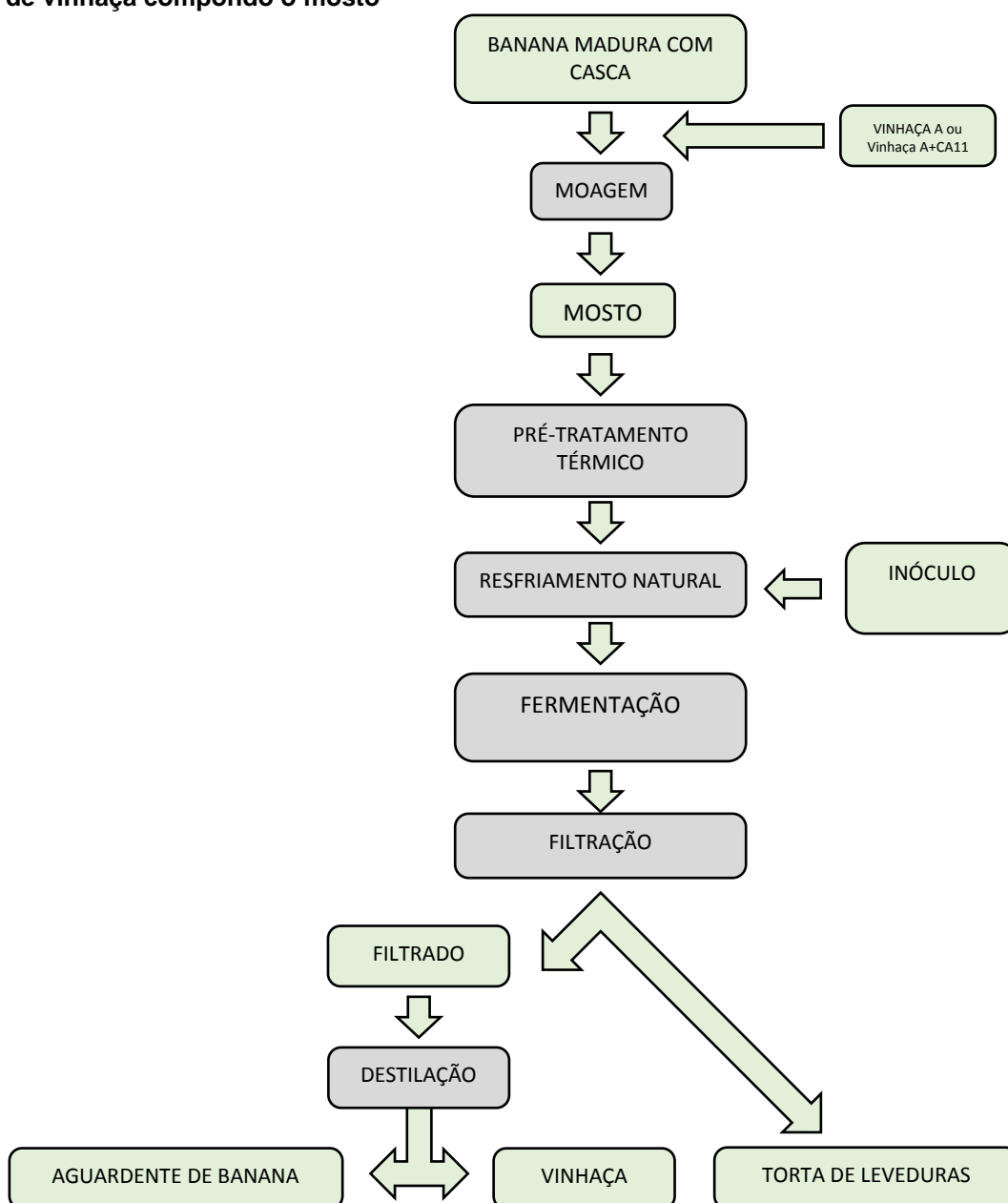
FIGURA 15: Fluxograma da produção da aguardente de banana com a casca de banana



### 3.7.4 Produção da aguardente de banana com casca com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto

As etapas do processo de produção de aguardente em mosto de banana (banana com casca), preparado com o reaproveitamento da vinhaça adicionada está ilustrado na FIGURA 16. Foi acrescida à massa de banana a vinhaça na proporção 1:1. Foi utilizada a levedura *Pichia* sp. para a fermentação. A Vinhaça A, assim, chamada por ser proveniente da do destilado da fermentação com a levedura A (*Pichia* sp.) e a Vinhaça A + CA11 é proveniente do destilado da junção dos filtrados dos fermentados um com a levedura A (*Pichia* sp.) e o outro fermentado com a levedura comercial CA11.

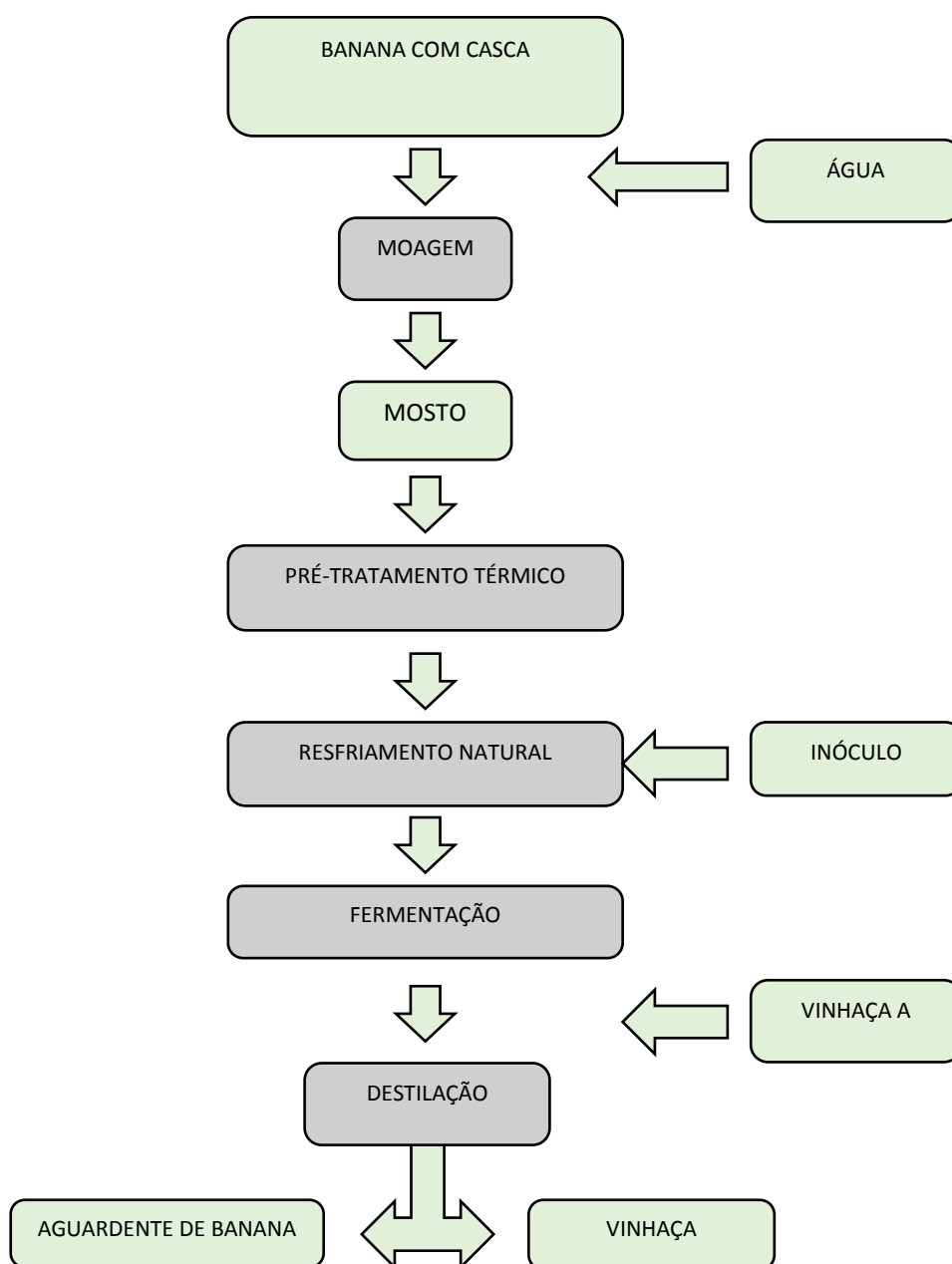
**FIGURA 16:** Fluxograma da produção da aguardente de banana com casca e reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto



### 3.7.5 Produção da aguardente de banana com casca e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado

As etapas do processo de produção de aguardente em mosto de banana (banana com casca) foram realizadas conforme descrito na FIGURA 17 com o emprego da levedura (*Pichia* sp.). Nesta produção, a vinhaça foi adicionada ao fermentado na proporção 1:1. O mosto fermentado diluído é destilado diretamente, sem filtração.

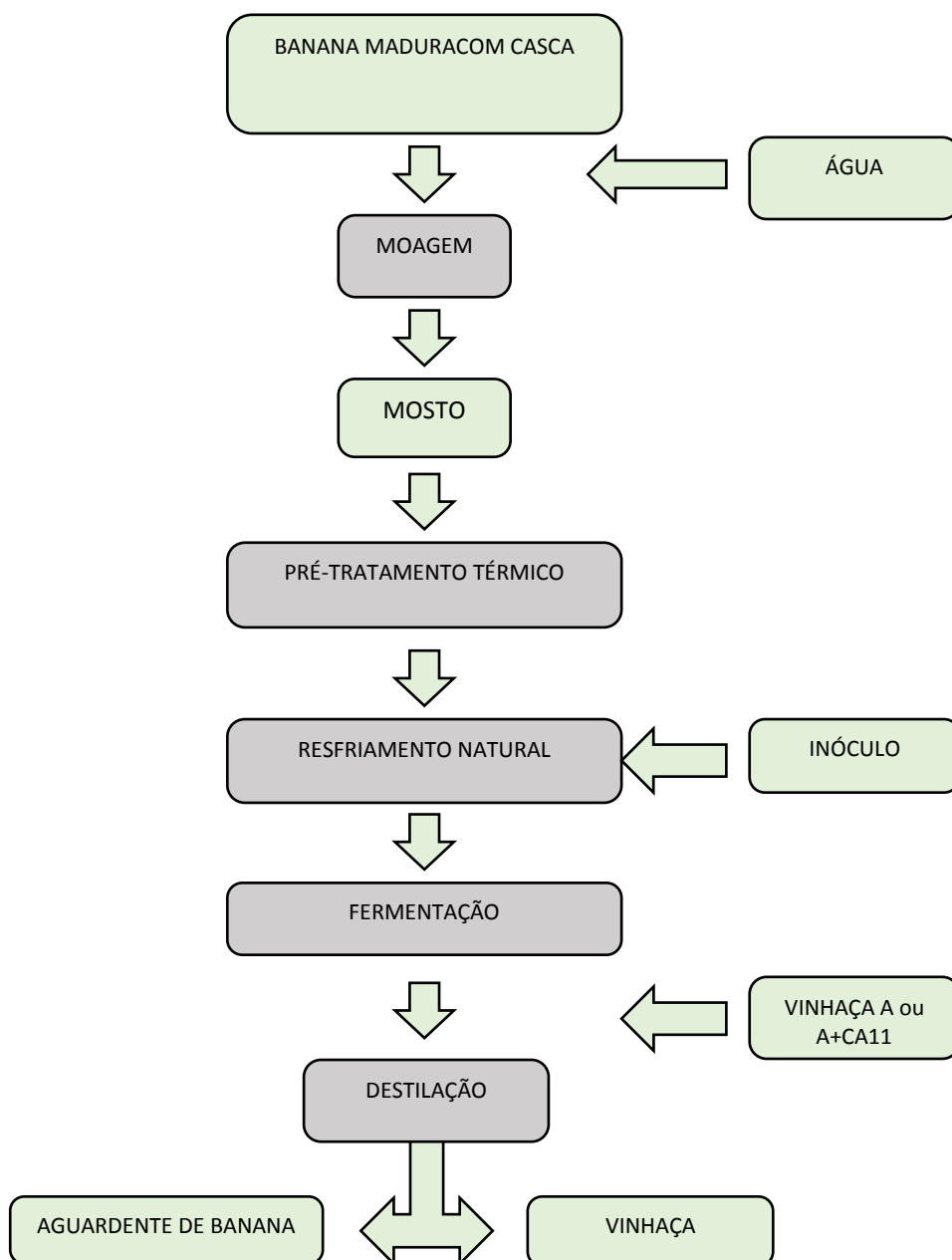
**FIGURA 17: Fluxograma da produção da aguardente de banana com casca e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração**



### 3.7.6 Produção da aguardente de banana sem casca e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração

As etapas do processo de produção de aguardente em mosto de banana (banana sem casca) foram preparadas com levedura (*Saccharomyces cerevisiae* comercial CA-11), FIGURA 18. Nesta etapa a vinhaça foi adicionada ao fermentado na proporção de 1:1. O mosto fermentado diluído foi destilado diretamente, sem filtração.

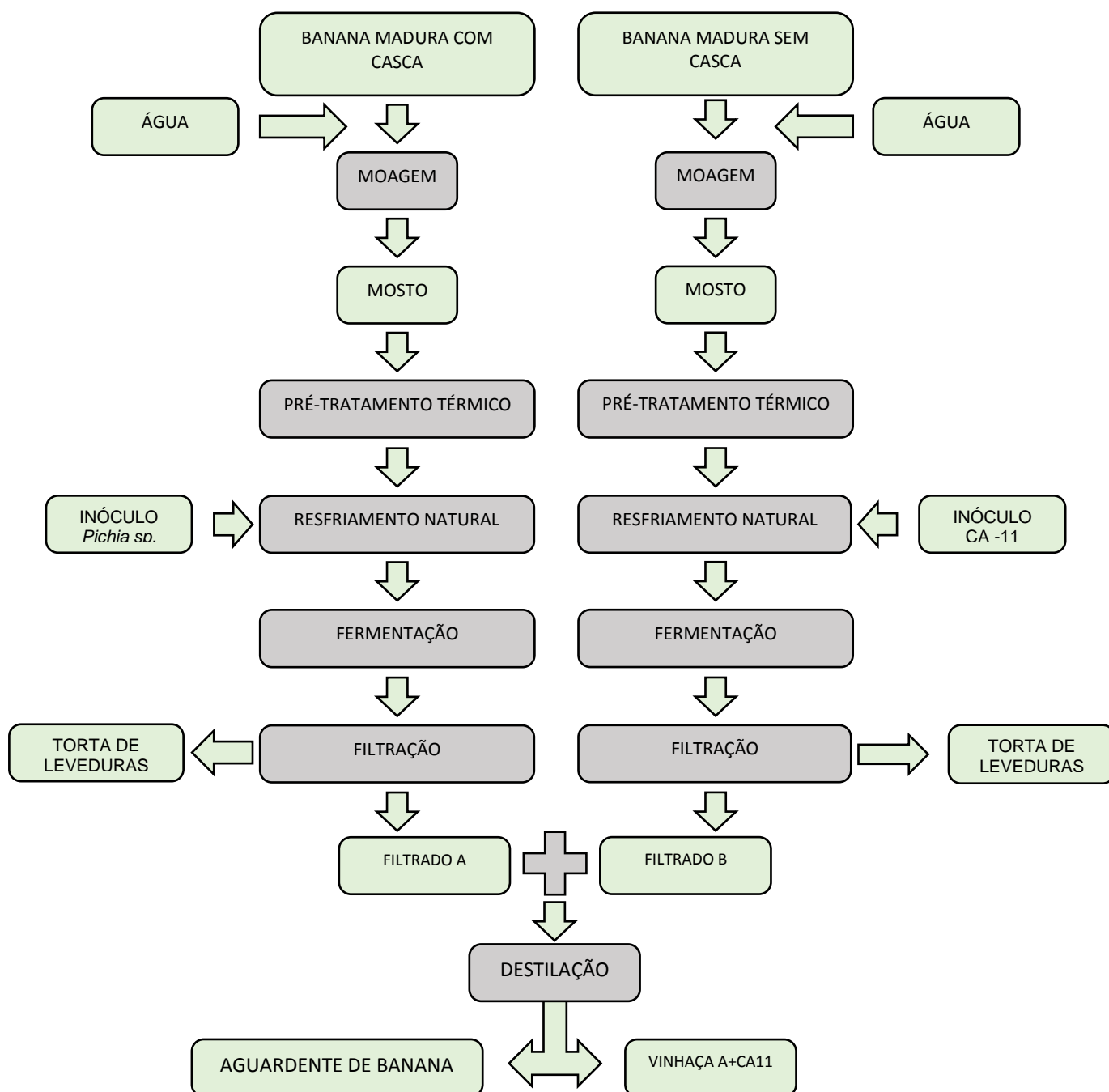
**FIGURA 18:** Fluxograma da produção da aguardente de banana sem casca e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração



### 3.7.7 Produção da aguardente de banana, fermentado e filtrado de banana com casca e banana sem casca – vinho proveniente de duas diferentes leveduras

As principais etapas do processo de produção de aguardente desta etapa utilizou-se filtrados compostos do mosto de banana com casca fermentado com *Pichia sp.i* (FIGURA 13) e do mosto de banana sem casca fermentado *Saccharomyces cerevisiae* comercial CA-11 (FIGURA 14). As fermentações foram conduzidas separadamente e os vinhos, após a filtração, foram misturados. As etapas realizadas estão demonstradas na FIGURA 19.

**FIGURA 19: Fluxograma da produção da aguardente de banana, fermentado e filtrado de banana com casca e banana sem casca – fermentação com duas diferentes leveduras**



### 3.8 DESTILAÇÃO

A destilação foi realizada em rotaevaporador na fase inicial da pesquisa (nos testes de fermentação em mosto de banana) e em destilador de Femel, na produção da aguardente.

A destilação do vinho obtido nas etapas iniciais de fermentação foi realizada em rotaevaporador (FIGURA 20). A temperatura do banho foi mantida a 70°C e o vácuo era de 500 mmHg.

O conteúdo evaporado e condensado na serpentina foi recolhido e separado em frações de acordo com a temperatura apontada no banho e na saída do vapor destilado.

**FIGURA 20: Rotaevaporador**



FONTE: Evaporador rotativo, 2014.

Os fermentados produzidos em maiores volumes, frascos de 6 L e galões de 20 L, foram destilados em alambique de Femel (FIGURA 21). O frasco é aquecido em chapa aquecedora e os compostos voláteis são recuperados no condensador, no qual circula água corrente a baixa temperatura. O condensado é recolhido na saída do condensador. Esse método é mais recomendado na destilação de volumes maiores.



O recolhimento do composto evaporado no condensador acoplado nessa angulação não permite a perda de volumes.

**FIGURA 21:** Alambique de Femel com frasco de Erlenmeyer e chapa de aquecimento, no primeiro plano, e Alambique de Femel com balão de fundo redondo e manta de aquecimento



FONTE: A autora

### 3.9 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DA BANANA

A caracterização físico-química da banana foi determinada pelo laboratório de Nutrição Animal da UFPR para determinação da umidade, resíduo mineral, proteína, fibra total, extrato etéreo, pH, íons cálcio, fósforo, sódio, potássio e magnésio.

A amostra enviada foi preparada a partir da banana *Musa cavendishii* (tipo nanica, nanicão), a qual foi picada e seca em estufa de circulação de ar a 50°C.

Diferentes amostras de lotes diferentes compuseram a amostra enviada para a determinação da composição. Todos os métodos analíticos seguiram o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2009).

### 3.10 DETERMINAÇÃO DOS VOLÁTEIS – ANÁLISE DO *HEADSPACE*

Os voláteis produzidos foram identificados e quantificados por cromatografia gasosa a partir da análise do *headspace*. O material a ser analisado foi transferido 5 mL, para frascos com capacidade de 30 mL contendo um septo. O frasco foi deixado em estufa a 30 °C durante 10 minutos para evaporação do padrão. As amostras do *headspace* foram retiradas por meio de uma seringa própria para gases (“*gas-tight*”). Nessa análise, visou-se determinar a quantidade de etanol produzido, bem como, os compostos de aroma presentes no *headspace* presentes nas amostras.

O equipamento utilizado foi o Cromatógrafo a Gás da marca Shimadzu, modelo GC17A e equipado com coluna HP-DB 5 (30 m x 0,32 mm) e detector de ionização de chama. As temperaturas do injetor e detector foram mantidas a 230 °C. A temperatura do forno foi programada inicialmente para 40°C durante 5 minutos, sendo aumentada a uma taxa de 20 °C/min até a temperatura final de 150 °C, que foi mantida durante 4 minutos. Como gás de arraste foi utilizado nitrogênio a uma vazão de 1,5 mL/min, e uma taxa de *split* de 1:5.

A concentração de voláteis foi calculada a partir de uma curva-padrão de etanol. A curva-padrão de etanol foi obtida pelas quantidades conhecidas de etanol foram adicionadas a um recipiente volumétrico contendo um septo, utilizado para obtenção de curvas padrões. O frasco foi deixado em estufa a 30 °C durante 10 minutos para evaporação do etanol. Em seguida, foram tomadas amostras do *headspace* com uma seringa própria.

Conhecendo-se a densidade e a massa molecular do padrão, foi calculada a concentração da amostra no *headspace* do balão em µmol/L. Plotando-se a concentração versus a área obtida por cromatografia gasosa obteve-se a equação da curva. A concentração foi expressa em mg/L de *headspace* equivalente de etanol.

A identificação dos compostos por cromatografia foi feita por meio da comparação do tempo de retenção dos compostos presentes no *headspace* dos cultivos com o tempo de retenção de diferentes padrões puros, injetados nas mesmas condições de análise da TABELA 2.

**TABELA 2: Tempo de retenção dos Compostos Voláteis (aromas) e características de odor.**

<b>Composto Volátil</b>	<b>Tempo de retenção (minutos)</b>	<b>CAS</b>	<b>Características de odor*</b>
metanol	1,855	67-56-1	Alcoólico
acetaldeído - etanal	1,869	75-07-0	Frutado pungente, etéreo, aldeídico
etanol	1,974	64-17-5	Alcoólico forte, éter médico
álcool n-propílico	2,382	71-23-8	Fermentado alcoólico, mofo
2,3-butanodiona	2,526	431-03-8	Manteiga forte, doce cremoso de caramelo, picante
acetato de etila	2,670	141-78-6	Etéreo frutado doce, erva fresca
2-metil-1-propanol	2,863	78-83-1	Etéreo avinhado
ácido acético	3,154	64-19-7	Picante forte, vinagre, azedo
n-butanol	3,208	71-36-3	Óleo fúsel, bálsamo doce banana
2 - pentanona	3,559	107-87-9	Frutado doce, amadeirado, etéreo, vinho de banana
propionato de etila	4,011	105-37-3	Doce, frutado, rum, abacaxi, uva
acetato de propila	4,058	109-60-4	Aipo, frutado fúsel, framboesa, pêra
3-metil-1-butanol	4,480	123-51-3	Óleo fúsel, alcoólico, uísque de banana, frutado
isobutirato de etila	5,224	97-62-1	Frutado doce, etéreo, fúsel alcoólico
1-pentanol	5,375	71-41-0	Óleo fúsel, bálsamo doce
acetato de isobutila	5,552	110-19-0	Doce de banana. frutado etéreo tropical
2-hexanona	5,980	591-78-6	Etéreo
2-hexanol	6,084	626-93-7	Avinhado, herbáceo
n-butil acetato	6,459	123-86-4	Solvente de banana, etéreo, frutado
1-hexanol	7,519	111-27-3	Etéreo, óleo fúsel, frutado, alcoólico, doce
acetato de isoamila	7,695	123-92-2	Frutado doce de banana
2-heptanona	7,934	110-43-0	Frutado, picante, amadeirado, doce de coco, ervas
benzaldeído	9,040	100-52-7	Forte, doce de amêndoa amarga, cereja
1-heptanol	9,193	111-70-6	Mofo, violeta, ervas verde, doce, amadeirado
2-octanona	9,419	111-13-7	Madeira fina, erva natural
hexanoato de etila	9,519	123-66-0	Doce frutado, abacaxi, banana verde, cera
2-octanol	9,543	123-96-6	Amadeirado, ervas verdes.
acetato de hexila	9,696	142-92-7	Frutado doce de banana, maçã verde
1-octanol	10,375	111-87-5	Cera, laranja verde, aldeídico, cogumelo
octanoato de etila	11,771	106-32-1	Vinho frutado doce, de damasco, de banana, aguardente de pêra
1-decanol	12,706	112-30-1	Gordura, cera, flora de laranja doce
ácido caprílico	13,310	124-07-2	Cera vegetal, queijo rançoso
decanoato de etila	14,636	110-38- 3	Doce de cera, frutado de maçã, uva brandy

\*Características do odor adaptação do *The Good Scents Company* (TGSC)

Composto volátil com odor de banana

### 3.11 DETERMINAÇÃO DOS AÇÚCARES REDUTORES

Os açúcares foram medidos por meio do método de Somogyi-Nelson (1952). Os açúcares redutores foram determinados adicionando 1 g de amostra a um frasco junto a 50 mL de água. Em um tubo de ensaio, foi adicionado 1 mL da solução de amostra e 1 mL do reativo A de Somogyi-Nelson e a mistura foi aquecida por 10 minutos em banho-maria. Após o resfriamento, 1 mL do reativo B de Somogyi-Nelson B e 7 mL de água foram adicionados. Procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a 535 nm.

### 3.12 DETERMINAÇÃO DO GRAU ALCOÓLICO

O teor alcoólico das aguardentes foi determinado por alcoômetro. A amostra de aguardente foi colocada em proveta, verificado a temperatura, colocado o alcoômetro e feito a leitura.

O alcoômetro centesimal se destina à determinação do grau alcoólico das misturas de água e álcool, indicando a concentração do álcool em volume e é expresso pela sua unidade de medida, grau Gay-Lussac (°GL), à temperatura de 20°C, expresso também em % (V/V).

Foi construída uma curva de correlação entre °GL (g/100mL) e a concentração de etanol no headspace (mg/L).

### 3.13 DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL DAS AGUARDENTES DE BANANA PRODUZIDAS

A determinação da acidez total titulável das aguardentes de bananas produzidas seguiu o método 04 estabelecido pelo MAPA contido no Manual de Métodos de Análises de Bebidas e Vinagres. (BRASIL, 1986). O método é o Titulométrico que se fundamenta na reação de neutralização dos ácidos com solução padronizada de álcali, até o ponto de equivalência com o uso de um indicador.

A amostra (aguardente de banana) é transferida para frasco de Erlenmeyer contendo água destilada e adicionar 2 a 3 gotas de fenolftaleína como indicador. Titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até coloração rosa.

A acidez total (At) é expressa em gramas de ácido acético por 100mL de amostra (g/100 mL), calculada pela fórmula:

$$At = \frac{Eq \times n \times N}{10 \times V}$$

Onde:

N = Normalidade da solução de hidróxido de sódio.

n = Volume da solução de hidróxido de sódio gastos na titulação, em mL.

At = Acidez total titulável.

V = Volume da amostra, em mL.

Eq = Equivalente grama do ácido acético (60,0).

### 3.14 RENDIMENTOS NA PRODUÇÃO DE AGUARDENTES DE BANANA

#### 3.14.1 Rendimentos do etanol

O rendimento do etanol nas aguardentes de banana produzidas foi calculado:

a) Rendimento do etanol (Y) na aguardente pelo açúcar, %.

$$Y = \frac{[\text{etanol produzido}]}{[\text{açúcar consumido}]}$$

b) Eficiência da produção de etanol, %

$$\epsilon = \frac{[\text{etanol produzido}]}{AR \times 0,5111} \times 100$$

AR = Açúcar redutor inicial do mosto

### 3.14.2 Rendimentos do acetato de isoamila

O percentual do rendimento do acetato de isoamila nas aguardentes de banana produzida foi calculado pelas fórmulas 1 e 2:

$$AI_p = AI_f - AI_i \quad (1)$$

$$\frac{AI_p}{AI_i} \times 100 \quad (2)$$

A equação 2 é expressa em % (rendimento do acetato de isoamila na aguardente de banana).

$AI_i$  = acetato de isoamila inicial no mosto de banana

$AI_f$  = acetato de isoamila final na aguardente de banana

$AI_p$  = acetato de isoamila produzido pelas leveduras

### 3.15 AGUARDENTE DE BANANA PRODUZIDA COMPARADA COM AS BEBIDAS ALCOÓLICAS DE BANANA COMERCIAIS

Foram adquiridas no comércio 8 (oito) marcas de bebidas alcoólicas cujos nomes citavam a banana no rótulo, para comparação com a aguardente de banana produzida.

Amostras das bebidas foram submetidas à análise dos voláteis. Os voláteis foram identificados e quantificados por cromatografia gasosa a partir da análise do *headspace*, descrito no item 3.5.

A TABELA 3 apresenta a codificação das bebidas alcoólicas comerciais, bem como, as características, °GL e procedências apresentadas nos rótulos.

**TABELA 3: Características e procedências das bebidas alcoólicas de banana adquiridas no comércio.**

<b>CODIFICAÇÃO</b>	<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>°GL</b>	<b>PROCEDÊNCIA</b>
C1	Aguardente de Banana prata	40	Itajubá - MG
C2	Aguardente de Banana ouro	40	Itajubá – MG
C3	Aguardente Composta com Banana	38	RS
C4	Aguardente de banana - granel	36	Passa Quatro – MG
C5	Aguardente Composta com Banana	39	Luis Alves – SC
C6	Aguardente Composta com Banana	38	Luis Alves – SC
C7	Aguardente Composta com Banana	42	Luis Alves – SC
C8	Cachaça artesanal com banana	45	MG

### 3.16 ANÁLISE SENSORIAL DA AGUARDENTE DE BANANA PRODUZIDA

Na análise sensorial foi tomada como amostra-referência uma aguardente destilada, com graduação alcoólica de 40 °GL a 20°C. A avaliação da aguardente foi feita segundo procedimento descrito por DUTCOSKY (1996).

Amostras contendo 5 mL da bebida foram distribuídas em copos transparentes com capacidade de 10 mL (FIGURA 21) e oferecido água e biscoito para após a degustação. A convocação dos voluntários solicitava maiores de 18 anos para análise sensorial de aguardente, sem citar a origem da matéria-prima e sem distinção do público, ou seja, pessoas abordadas aleatoriamente e não treinadas.

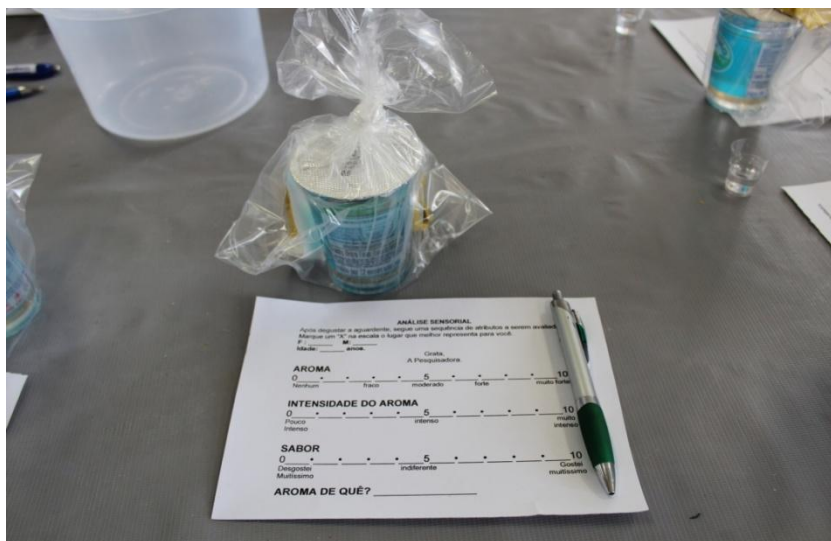
Os avaliadores analisaram as amostras, em ambiente preparado atribuindo-lhes notas conforme escala hedônica de 1 (um) a 10 (dez), para os atributos: aroma, intensidade do aroma e sabor. O aroma foi avaliado em três níveis: fraco (notas de 0 a3), moderado (notas de 4 a 6) e forte (notas de 7 a10).

A intensidade do aroma foi avaliada em três níveis: pouco intenso (notas de 0 a 3), intenso (notas de 4 a 6) e muito intenso (notas de 7 a 10).

O sabor foi avaliado em três níveis: desgostei (notas de 0 a 3), indiferente (notas de 4 a 6) e gostei (notas de 7 a 10).

Na mesma ficha de avaliação foi questionado qual o sabor que o avaliador conseguia identificar (sem múltipla escolha, de forma livre). Os testes foram conduzidos no mesmo dia, nas mesmas condições de avaliação e os avaliadores foram voluntários e não houve distinção de público. Essa análise foi submetida com registro no Comitê de Ética na Plataforma Brasil para liberação do teste.

**FIGURA 22: Ambiente preparado para avaliação sensorial**



FONTE: A autora

### 3.16.1 Teste de Aceitabilidade

O teste de aceitabilidade deve ter no mínimo de cem julgadores, para uma amostra. (DUTCOSKY, 1996).

O teste de aceitabilidade (Teste de Aceitação) avalia o quanto um consumidor gosta ou desgosta de um determinado produto.

O índice de aceitabilidade (I.A.) foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$I.A. = \frac{\text{volume da bebida consumida}}{\text{volume da bebida distribuída}} \times 100$$



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 SELEÇÃO DE LEVEDURAS

Foram testadas 13 cepas de leveduras pertencentes ao Banco de Cepas do Laboratório de Processos Biotecnológicos (LPB/UFPR) do Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da UFPR. Estas cepas foram selecionadas quanto à produção de etanol, em meio de caldo de cana. Além destas, foram selecionadas duas cepas isoladas da banana e uma cepa de *S. cerevisiae* comercial (CA-11) para posterior fermentação do mosto de banana.

#### 4.1.1 Fermentação em caldo de cana

As fermentações em caldo cana, conforme descrito em 3.4.1 foram realizadas com o intuito de selecionar as leveduras do banco de cepas do LPB/UFPR com maior produção de etanol. O caldo de cana empregado nos testes de seleção de leveduras do LPB/UFPR possuía 13,40 % de açúcares redutores e pH 5,14. Os resultados de produção do etanol estão demonstrados na TABELA 4.

**TABELA 4: Resultados de produção de etanol em caldo de cana com leveduras do banco de cepas do LPB/UFPR.**

LEVEDURAS	Fermentação ESTÁTICA (mg/L)	Fermentação em SHAKER (mg/L)
<i>Candida utilis</i> LPB-291	nd	94,6 ±0,002
<i>Saccharomyces uvarum</i> LPB-292	0,6 ±0,001	166,3 ±0,003
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> LPB-293	67,6 ±0,002	140,0 ±0,002
<i>Pichia stipitis</i> ATCC 5376	8,1 ±0,002	88,3 ±0,003
<i>Saccharomyces boulardii</i> LPB-295	140,4 ±0,003	170,1 ±0,001
<i>Candida tropicalis</i> LPB-297	14,6 ±0,001	129,1 ±0,002
<i>Candida tropicalis</i> CCT 1890	25,6 ±0,003	51,8 ±0,002
<i>Candida guilliermoundii</i> CCT 2651	1,3 ±0,003	30,4 ±0,001
<i>Kluyveromyces marxianus</i> ATCC 10022	17,5 ±0,01	115,5 ±0,2
<i>Candida lipolytica</i> CCT 1095	1,3 ±0,002	nd
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> Y 2547	nd	27,5 ±0,01
<i>Schwanniomyces castellii</i> LPB-303	36,8 ±0,03	nd
<i>Pachysolen tannophilus</i> LPB-304	35,9 ±0,02	nd

nd = não detectado

Os resultados apresentados na TABELA 4 evidenciam que há diferenças nas produções de etanol em diferentes condições de cultivo. As cepas *S. cerevisiae* (LPB-293), *S. boulardii* (LPB-295), *Candida tropicalis* (LPB-297), *K. marxianus* (ATCC 10022) produziram etanol tanto sob agitação quanto em condições estáticas.

Estas cepas foram selecionadas para as fermentações com banana devido à produção de etanol superior em relação às demais cepas. A produção de etanol sob agitação foi maior do que a estática. Isto acontece devido aos benefícios que a agitação mecânica promove, como, o impedimento da decantação do mosto, maior uniformidade do meio em fermentação mantendo as leveduras em suspensão, o que favorece a área de contato entre a levedura com o substrato. (CALDAS, BORÉM e SANTOS, 2012).

#### **4.1.2 Isolamento de leveduras da banana**

O isolamento descrito em 3.1.3 resultou em duas cepas diferentes (A e B), separadas quanto à morfologia da colônia. Ambas foram selecionadas com base na produção de etanol e de compostos de aroma de banana em meio de mosto de banana com e sem casca (TABELA 13). Posteriormente, foram realizadas análises para identificação das cepas.

##### **4.1.2.1 Identificação e sequenciamento genético das leveduras selecionadas**

A metodologia para a identificação das leveduras selecionadas foi descrita no item 3.1.3.1, sequenciamento de DNA.

Na TABELA 5 constam as leveduras identificadas, a levedura A, com 99% de similaridade, as leveduras: *Pichia* sp. e a *Pichia fermentans*; a levedura B, com 99% de similaridade as leveduras: *Hanseniaspora uvarum*, *Hanseniaspora opuntiae* e a *Hanseniaspora guilliermondii*.

As leveduras foram enviadas para submissão direta de dados de sequência para o GenBank. Foram gerados os seguintes registros:

- BankIt1841595 LPBII-A KT309129 para *Pichia kluyveri*.
- BankIt1841595 LPBII-B KT309130 para *Hanseniaspora* sp.

**TABELA 5: Identificação e sequenciamento das leveduras isoladas pela empresa ACTGene Análises Moleculares Ltda.**

Código	Mais provável	Seqüência	grau de similaridade
<b>A</b>	<i>Pichia</i> sp.; <i>Pichia fermentans</i>	TGCGGAAGGATCATTACTGTGATTTATATCTTAT ACACATGCGTGAGCGCACCAAACACCTAAAAT ...	99% de similaridade
<b>B</b>	<i>Hanseniaspora uvarum</i> ; <i>Hanseniaspora opuntiae</i> ; <i>Hanseniaspora guilliermondii</i>	TCCTACCTGATTTGAGGTCAAACCTTGATGAAT ...	99% de similaridade

A levedura 'A' foi identificada como pertencente ao gênero *Pichia*, entretanto, para a espécie, o grau de similaridade foi de 99% tanto para *Pichia kuyveri*, quanto para *Pichia fermentans*.

Foi realizado teste simples de fermentação comparando a produção de etanol e de acetato de isoamila da levedura A com a *Pichia fermentans* proveniente do banco de cepas do LPB/UFPR (QUADRO 12). Com a levedura *Hanseniaspora sp* não foi realizado teste, já que esse gênero não constava do banco de cepas do LPB/UFPR.

Comparou-se os compostos produzidos na fermentação, especificamente em relação ao acetato de isoamila pela levedura isolada A (7,8 mg/L) com a *Pichia fermentans* (1,8 mg/L de *headspace*), na temperatura de 28°C. Os resultados da produção de etanol, de acetato de isoamila e outros compostos voláteis detectados encontram-se na TABELA 6.

**TABELA 6: Comparação produção do etanol e acetato de isoamila pela levedura 'A' com *Pichia fermentans* ITD00165 em mosto de banana a 28°C durante 24 horas**

Voláteis	Isolada A (mg/L)	<i>Pichia fermentans</i> (mg/L)
acetaldeído - etanal	0,5 ±0,001	0,2 ±0,001
etanol	15,8 ±0,003	79,1 ±0,002
acetato de etila	35,2 ±0,001	1,3 ±0,001
2 - pentanona	0,4 ±0,001	nd
3-metil-1-butanol	0,2 ±0,001	nd
acetato de isobutila	1,6 ±0,002	nd
2-hexanol	0,3 ±0,001	0,3 ±0,001
acetato de isoamila	7,8 ±0,003	1,8 ±0,002

Os compostos voláteis detectados na fermentação do mosto de banana com casca pela levedura isolada A, não coincidiram com os resultados obtidos com *Pichia fermentans*. Por essa razão a levedura A foi considerada como *Pichia* sp., pois há necessidade de mais análises para determinar a espécie.

## 4.2 COMPOSIÇÃO DA BANANA

### 4.2.1 Composição físico-química

A TABELA 7 apresenta a composição da banana com casca utilizada para a produção de aguardente de banana.

**TABELA 7: Composição físico-química da banana com casca.**

Componente	%
Proteína bruta	5,70
Carboidratos	12,2
Extrato etéreo	4,03
Fibra bruta	1,89
Resíduo mineral	3,98
Ca	0,18
P	0,10
Na	0,02
K	1,67
Mg	0,08

Fonte: LABORATÓRIO DE NUTRIÇÃO ANIMAL/ UFPR.

A banana pode ser um bom substrato para a produção de aguardente, pois possui os nutrientes necessários para a fermentação. As leveduras necessitam de meio contendo fonte de carbono, vitaminas, nitrogênio, fósforo, magnésio, cálcio, potássio, para um bom desempenho da fermentação etanólica, multiplicação celular e velocidade da fermentação. (VASCONCELOS, 1987).

### 4.2.2 Açúcares Redutores

O mosto de banana sem casca apresentou o maior teor de açúcar redutor, 156,4 g/L, seguido pela banana com casca 143,5 g/L. Para o mosto constituído somente pela casca de banana acrescido de sacarose, obteve-se 114,5 g/L. Calculou-se a quantidade de açúcar redutor nas vinhaças, pois foram reaproveitadas

para constituírem parte do mosto em substituição a água (na proporção de 1:1, sendo 1 de banana e 1 de vinhaça). (TABELA 8).

**TABELA 8: Teor de açúcares redutores no mosto utilizado para produção de aguardente**

SUBSTÂNCIAS	AÇÚCARES REDUTORES (g/L)
Banana com casca	143,5
Banana sem casca	156,4
Casca de banana	114,5
Vinhaça A	38,7
Vinhaça A + CA11	24,6
Banana com casca com vinhaça A	125,8
Banana com casca com vinhaça A + CA11	119,9
Banana sem casca com vinhaça A	134,2
Banana sem casca com vinhaça A + CA11	129,4

Considerando que a concentração inicial de açúcar necessária para que o fermentado atinja os níveis mínimos de álcool para a produção de aguardente é de aproximadamente 100 g/L (PAULINO, 2009), todos os mostos assim constituídos, apresentavam os teores desejáveis de açúcar redutor para a fermentação alcoólica.

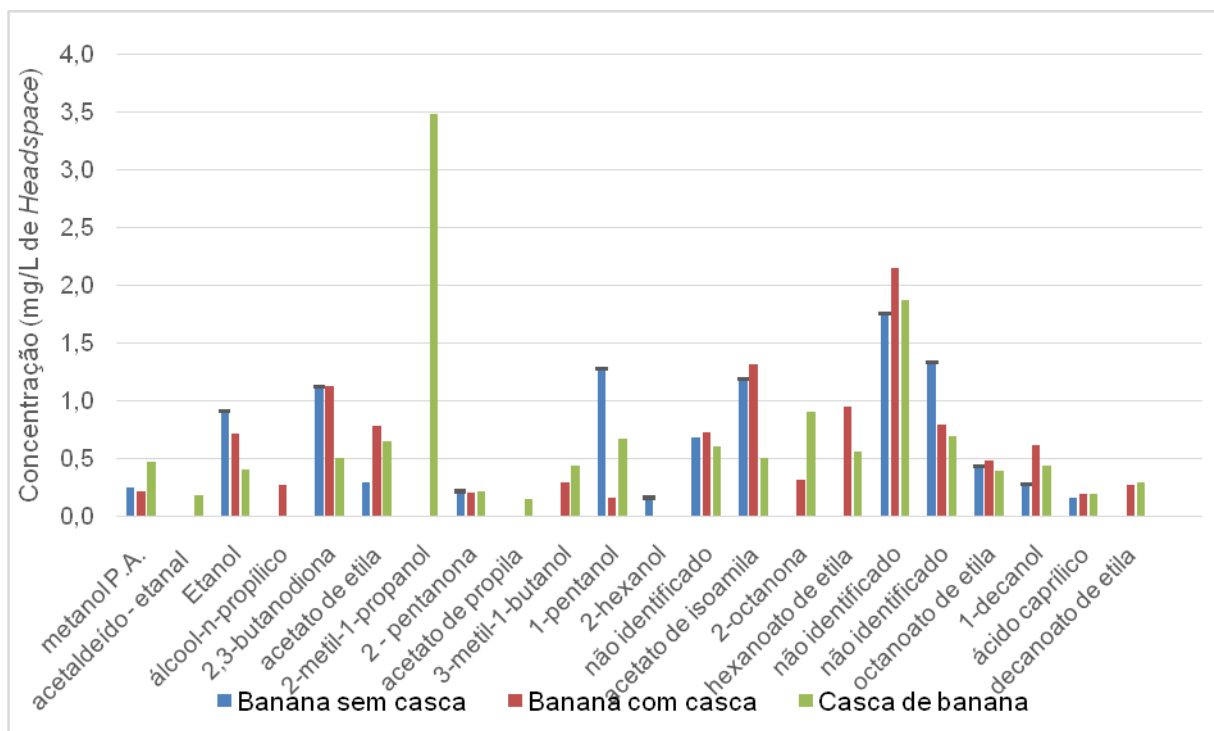
A fermentação alcoólica ocorre devido ao fato de que as células da levedura produzem a energia que lhes é necessária para sobreviver, por meio de dois fenômenos de degradação da matéria orgânica: a respiração, de forma aeróbica, ou a fermentação, de forma anaeróbica. Na fermentação alcoólica, a levedura necessita transformar muito açúcar em álcool para assegurar suas necessidades energéticas.

#### **4.2.3 Compostos voláteis da banana**

As bananas para compor o mosto inicial foram caracterizadas em relação ao perfil de compostos voláteis. Identificou-se e quantificou-se uma variedade de compostos como aldeídos, ésteres e alguns alcoóis. Alguns compostos não puderam ser identificados.

Os resultados dos compostos voláteis detectados na banana sem casca, banana com casca e na casca da banana são apresentados no GRÁFICO 1.

Observa-se que há presença do acetato de isoamila em maior quantidade na banana com casca 1,3 mg/L de *headspace*.



**GRÁFICO 1: Comparação dos compostos voláteis (aromas) detectados no *headspace* da banana com e sem casca e somente da casca. (Concentração em mg/L de *headspace*).**

Durante a maturação, o metabolismo dos frutos "desenvolve a capacidade para converter alguns dos ácidos graxos em ésteres, cetonas e alcoóis (como 3-metil-1-butanol – álcool isoamílico), as quais são importantes compostos voláteis em muitas frutas com aroma distinto". (JIANG e SONG, 2010; LINDSAY, 1996; TRESSL e DRAWERTL, 1973).

Tressl e Jennings (1972) identificaram que os principais constituintes do aroma de banana são: acetato de etila, etanol, acetato de propila, acetato de isobutila, etilbutirato, isobutilbutirato, 3-metil-butil acetato (isoamil acetato ou acetato de isoamila).

Facundo *et al.* (2012) estudaram a produção dos compostos voláteis de diferentes cultivares de banana, durante a maturação em câmara fria. Os principais compostos voláteis em banana variedade Nanicação foram: 2-pentanol, acetato de 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico), 2-metilpropil butanoato, 3-metil-butanoato, 3-

metilbutil acetato (acetato de isoamila), butirato de isoamila, isobutirato de isobutila, isobutirato de butila, acetato de butila,

Foi constatado que as bananas utilizadas para a produção das aguardentes apresentaram os mesmos compostos voláteis encontrados na literatura, que compõem o aroma de banana, como o 2 – pentanona, 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico), acetato de isobutila, acetato de isoamila, hexanoato de etila, octanoato de etila. A substância de impacto do aroma de banana é o acetato de isoamila.

#### 4.3 PRÉ-TRATAMENTO TÉRMICO DO MOSTO DE BANANA

Com o tratamento térmico do mosto de banana obteve-se melhor homogeneização do macerado, redução da carga microbiana, além de inativação de enzimas que pudessem causar o escurecimento da polpa. Na TABELA 9 observa-se o efeito do tratamento térmico nas condições estudadas em relação à presença de microrganismos (sinal positivo, +) e à ausência do desenvolvimento de microrganismos (sinal negativo, -).

**TABELA 9: Tratamento térmico do mosto banana com e sem casca em relação ao desenvolvimento de microrganismos.**

TEMPERATURA (°C)	TEMPO (min)	PRESENÇA DE MICRORGANISMOS	
		Banana com casca	Banana sem Casca
50	30	+	+
	40	+	+
60	30	+	+
	40	+	+
70	30	+	+
	40	-	-
80	30	-	-
	40	-	-

+ presença    - ausência

Nas temperaturas de 50°C e 60°C, nos tempos de 30 e 40 minutos, houve crescimento de microrganismos. Na temperatura de 80°C, não houve crescimento de

microrganismos, porém a massa de banana ficou aderida e caramelizada (queimada) no recipiente, descartou-se essa temperatura. Com o resultado apresentado, optou-se pela temperatura de 70°C e o tempo de 40 minutos, pois não houve crescimento de microrganismos no meio na placa de Petri. Esse tratamento além de reduzir e/ou a eliminar microrganismos contaminantes, melhorou a dispersão da massa, e evitou o processo de escurecimento do mosto.

### 4.3 FERMENTAÇÃO EM MOSTO DE BANANA

Os testes de fermentação com mosto de banana foram realizados para verificar quais leveduras produziam etanol e acetato de isoamila.

Foi estudada a influência do tempo de fermentação, da temperatura, da composição do mosto de banana com casca e sem casca.

#### 4.3.1 Estudo da influência do tempo de fermentação na produção do etanol e acetato de isoamila

Utilizou-se as quatro leveduras (*S. cerevisiae*, *S. boulardii*, *C. tropicalis*, *K. marxianus*) do banco de cepas do LPBI previamente selecionadas, a levedura comercial CA-11 e as isoladas A (*Pichia* sp.) e B (*Hanseniaspora* sp.). Avaliou-se a produção de etanol e acetato de isoamila (aroma característico de banana) na fermentação com banana.

As fermentações foram conduzidas a 28 °C e com os tempos de cultivo de 24h, 48h, 72h e 96h.

As melhores produções de etanol e acetato de isoamila foram entre os tempos de 24 horas e 48 horas de fermentação para todas as leveduras estudadas. Para a continuação do estudo foi assumido o tempo de 24h de fermentação.

Os resultados de análise dos voláteis, etanol e acetato de isoamila estão demonstrados na TABELA 10.



TABELA 10: Influência do tempo na produção do etanol e acetato de isoamila.

Levedura	Voláteis	Tempo (h)			
		24 (mg/L)	48 (mg/L)	72 (mg/L)	96 (mg/L)
<i>Pichia sp.</i>					
	Etanol	13,4 ±0,002	48,6 ±0,003	34,5 ±0,003	0,9 ±0,002
	acetato de isoamila	8,3 ±0,001	12,7 ±0,002	6,9 ±0,002	0,1 ±0,01
<i>Hanseniaspora sp</i>					
	Etanol	11,2 ±0,002	38,1 ±0,003	32,0 ±0,002	0,6 ±0,001
	acetato de isoamila	1,4 ±0,001	0,9 ±0,01	0,5 ±0,01	1,5 ±0,003
<i>S. cerevisiae</i>					
	Etanol	140,0 ±0,002	153,6 ±0,003	68,6 ±0,002	48,1 ±0,002
	acetato de isoamila	0,3 ±0,001	0,3 ±0,001	0,3 ±0,001	0,2 ±0,001
<i>S. boulardii</i>					
	Etanol	33,0 ±0,002	92,4 ±0,003	42,2 ±0,002	14,0 ±0,004
	acetato de isoamila	1,1 ±0,003	1,4 ±0,004	1,4 ±0,003	0,3 ±0,001
<i>Candida tropicalis</i>					
	Etanol	45,1 ±0,002	97,8 ±0,005	42,0 ±0,002	14,1 ±0,002
	acetato de isoamila	2,8 ±0,002	2,6 ±0,002	1,4 ±0,003	0,3 ±0,001
<i>Kluyveromyces marxianus</i>					
	Etanol	79,2 ±0,002	92,7 ±0,003	38,2 ±0,004	23,3 ±0,002
	acetato de isoamila	0,4 ±0,001	1,2 ±0,002	0,7 ±0,001	0,3 ±0,001
CA11					
	Etanol	159,5 ±0,004	298,3 ±0,002	134,5 ±0,002	57,9 ±0,002
	acetato de isoamila	0,3 ±0,001	0,3 ±0,001	0,3 ±0,001	0,2 ±0,001

#### 4.3.2 Estudo da influência da temperatura na produção do etanol e acetato de isoamila

Utilizando-se as leveduras do banco de cepas do LPB I, a levedura comercial CA-11 e os isolados A (*Pichia sp.*) e B (*Hanseniaspora sp*), além da avaliação da produção de etanol, observou-se, também, na fermentação com banana, a produção do acetato de isoamila (aroma característico de banana). As fermentações foram conduzidas em duas temperaturas diferentes, 20 e 28 °C e tempo de cultivo de 24h.

Pataro *et al.* (2000) estudaram as características da fisiologia de 210 leveduras isoladas em um alambique de cachaça. A maioria das linhagens foi fisiologicamente adaptada às condições ambientais observadas nas dornas de

fermentação. Elas foram capazes de crescer a 35°C, em meio contendo até 25% de glicose e em concentração de 5% (v/v) de etanol. Stupiello e Horii (1981) afirmam que a reprodução de células pode ocorrer até a temperatura da ordem de 38°C, havendo inibição da multiplicação a 40°C e na presença de 8 a 9 % v/v de etanol. Para Jonas *et al.* (1981) a temperatura ótima para a fermentação é de 5°C a 10°C acima do ótimo para o crescimento da levedura, que se encontra na faixa de 25°C a 30°C. É conhecido que em baixas temperaturas produzem mais aromas, o que se observa para a levedura *Hanseniaspora* sp. com produção de 15,2 mg/L a temperatura de 20°C e 4,4 mg/L a 28°C.

Os demais resultados de análise dos voláteis, etanol e acetato de isoamila estão demonstrados na TABELA 11.

**TABELA 11: Resultados da produção de etanol e acetato de isoamila (mg/L de *headspace*) em mosto de banana nas temperaturas de 20 e 28°C em 24 horas.**

Leveduras	Voláteis (mg/L)	Temperatura (°C)	
		20	28
<i>Pichia</i> sp.			
	Etanol	20,1 ±0,004	47,3 ±0,006
	acetato de isoamila	8,1 ±0,007	13,0 ±0,001
<i>Pichia fermentans</i>			
	Etanol	25,3 ±0,003	13,1 ±0,008
	acetato de isoamila	1,4 ±0,004	1,2 ±0,003
<i>Hanseniaspora</i> sp			
	Etanol	50,3 ±0,003	58,5 ±0,005
	acetato de isoamila	15,2 ±0,004	4,4 ±0,004
<i>S. cerevisiae</i>			
	Etanol	77,5 ±0,004	138,4 ±0,008
	acetato de isoamila	1,3 ±0,003	1,4 ±0,005
<i>S. boulardii</i>			
	Etanol	62,6 ±0,005	79,0 ±0,007
	acetato de isoamila	1,3 ±0,004	1,6 ±0,003
<i>Candida tropicalis</i>			
	Etanol	45,1 ±0,008	67,0 ±0,006
	acetato de isoamila	1,4 ±0,002	1,8 ±0,006
<i>Kluyveromyces marxianus</i>			
	Etanol	58,0 ±0,006	79,4 ±0,003
	acetato de isoamila	1,3 ±0,005	1,8 ±0,002

Os resultados obtidos mostram que a temperatura de 28°C foi mais favorável à produção de etanol quando comparada aos cultivos realizados a 20°C, portanto, para a produção de aguardente de banana em maior volume optou-se pela maior temperatura. Quanto à produção de etanol, com a cepa *S. cerevisiae* obteve-se maior quantidade do produto, alcançando 138,4 mg/L de etanol.

Em relação à produção do acetato de isoamila, a cepa *Hanseniaspora* sp. foi a maior produtora dentre as cepas testadas na temperatura de 20°C, com 15,2 mg/L.

O mosto de banana fermentado a temperatura de 20°C favoreceu a produção de aromas. A fermentação em temperaturas mais baixas tem sido utilizada na produção de vinhos. Na produção de vinho tinto, Rizzon e Manfroi (2006) fermentaram o mosto de uva à baixa temperatura, aproximadamente 20°C, para preservar os aromas primários originais da uva e ajudar na formação de aromas agradáveis na fermentação.

#### **4.3.3 Estudo da influência da casca de banana na produção do etanol e acetato de isoamila**

As melhores condições para a fermentação de banana com casca foram para as leveduras *Pichia* sp., *Hanseniaspora* sp., *S. boulardii*, *Candida tropicalis* e *K. marxianus*, para a produção de acetato de isoamila. Para as leveduras *S. cerevisiae* e comercial CA-11 constatou-se maior produção de etanol na fermentação do mosto de banana sem casca, TABELA 12.

O desempenho da levedura comercial CA-11 foi superior (175,2 mg/L) na fermentação do mosto de banana sem casca, destacando-se a elevada produção de etanol, porém, com baixa produção de compostos de aromas. Essa particularidade de produção de etanol foi aproveitada para a composição na obtenção da aguardente de banana.

Oliveira (2001) estudando as leveduras utilizadas na produção de bebidas alcoólicas constatou que elas devem apresentar alta tolerância ao álcool para que ocorra bom rendimento. Na produção de etanol com a comercial CA-11, também, constatou-se sua alta tolerância ao etanol.

**TABELA 12: Comparação da produção do etanol e acetato de isoamila (mg/L de *headspace*) em mosto de banana com e sem casca.**

Leveduras	Voláteis	Banana	
		COM casca (mg/L )	SEM casca (mg/L )
<i>Pichia</i> sp.			
	Etanol	48,8 ±0,001	41,9 ±0,008
	acetato de isoamila	11,4 ±0,003	1,2 ±0,004
<i>Hanseniaspora</i> sp.			
	Etanol	58,4 ±0,003	56,0 ±0,005
	acetato de isoamila	4,4 ±0,002	1,3 ±0,006
<i>S. cerevisiae</i>			
	Etanol	64,4 ±0,005	138,3 ±0,006
	acetato de isoamila	1,0 ±0,003	1,3 ±0,005
<i>S. boulardii</i>			
	Etanol	71,9 ±0,004	62,2 ±0,006
	acetato de isoamila	3,0 ±0,003	1,3 ±0,006
<i>Candida tropicalis</i>			
	Etanol	72,2 ±0,004	55,7 ±0,011
	acetato de isoamila	3,1 ±0,004	1,3 ±0,003
<i>Kluyveromyces marxianus</i>			
	Etanol	62,6 ±0,004	69,1 ±0,004
	acetato de isoamila	3,2 ±0,003	1,3 ±0,004
CA-11			
	Etanol	90,8 ±0,004	175,2 ±0,007
	acetato de isoamila	1,2 ±0,004	1,3 ±0,007

A levedura CA-11 é recomendada pelo fabricante (LNF, 2014) para a produção de cachaça, por ter aproveitamento quase que total da sacarose presente no caldo-de-cana e ser tolerante a altas concentrações de etanol. Devido a essa tolerância a altas concentrações de etanol é que foi testada no mosto de banana. Constatou-se que a levedura comercial CA-11 é boa produtora de etanol no mosto de banana sem casca.

## 4.4 TRATAMENTO ENZIMÁTICO

### 4.4.1 Determinação da quantidade das enzimas

O mosto preparado com banana com casca e água (1:1) inicial, ou seja, antes do tratamento de hidrólise enzimática, apresentou um teor de açúcar de 170 g/L, resultado este que será comparado com aqueles obtidos nas hidrólises.

A partir dos resultados mostrados neste estudo, determinou-se que as concentrações ótimas das enzimas são Ultrazym AFP-L: 0,35 mL/kg e Amylase AGXXL: 0,052 mL/kg. Além disso, foi determinado que o tempo ótimo de reação foi de 3 horas e 20 minutos, pois após esse período a quantidade de açúcares permanece a mesma.

Após a utilização das enzimas no tempo de 3 horas e 20 minutos, a concentração final de açúcares redutores no mosto de banana com casca aumentou de 170 g/L para 750 g/L, o que representa um aumento de 441%. O uso dessas enzimas aumenta a disponibilidade de açúcares no meio fermentativo, podendo aumentar a síntese dos produtos e acelerar a obtenção dos mesmos. Conforme caracterizado no QUADRO 7, existem 20,8 mg de carboidratos na composição por 100g da polpa de banana nanica, dentre esses carboidratos, podem estar presentes polissacarídeos complexos não-redutores, como amido nas concentrações que variam de 1,0 a 20,0 % (QUADRO 4).

A ação das amilases, como a glucoamilase Amylase AGXXL, nesses substratos é específica, a enzima atua no sitio ativo liberando açúcares redutores, glicose, mais biodisponíveis para o consumo do microrganismo.

A enzima Ultrazym é uma preparação enzimática composta de poligalacturonase, uma enzima da família das pectinases e celulase. As enzimas agem nos conteúdos celulósicos e pectínicos da polpa e principalmente da casca da banana.

A utilização da hidrólise da polpa de frutas com enzimas pectinolíticas aumenta o rendimento da extração do suco tornando-o também mais fluido, menos viscoso, o que acarreta em um maior rendimento em etanol na fermentação. Por outro lado, o uso de enzimas pectinolíticas pode ocasionar a liberação de metanol, que, dependendo da quantidade, é tóxico ao organismo humano. Já a filtração do

mosto remove substâncias que contém pectinas e podem aumentar o teor de metanol no meio fermentado.

Além disso, segundo GUYMON (1972), a presença de substâncias porosas no meio de fermentação, como ocorre no suco de banana não filtrado pode favorecer o aumento da formação de alcoóis superiores. Na produção de aguardente de cana, após a extração do caldo da cana de açúcar, o mesmo é também filtrado em tela fina, a fim de reter partículas sólidas e residuais do bagaço (bagacilho) que são ricos em pectina. (MAIA, 2006). Após esta etapa, ocorre ainda uma decantação para eliminação dos pequenos sólidos restantes.

#### **4.4.2 Avaliação da influência da agitação na hidrólise enzimática**

Embora o resultado anterior tenha alcançado expressivo rendimento, essa quantidade ainda não era adequada, considerando-se que para a produção de aguardente, a legislação estipula que o mosto deve conter aproximadamente 100 g/L de açúcares fermentescíveis. (PAULINO, 2009).

No segundo experimento foi realizada uma tentativa de aumentar ainda mais o teor de açúcar, incubando a enzima e a massa de banana com casca sob agitação moderada e mantendo as melhores condições obtidas no estudo anterior (item 4.4.1), Ultrazym AFP-L: 0,35 mL/kg e Amylase AGXXL: 0,052 mL/kg em tempo de reação de 3 horas e 20 minutos.

Os resultados desse estudo alcançaram 1200 g de açúcares redutores por litro de massa. Considerando o conteúdo inicial de 170 g/L de açúcares redutores, a concentração aumentou em 706 %, ultrapassando os valores recomendados por Paulino (2009). É importante destacar que posteriormente a esse estudo de hidrólise enzimática, o mosto assim tratado foi submetido à fermentação para a produção de aguardente.

#### **4.4.3 Avaliação do mosto tratado enzimaticamente na produção do etanol e acetato de isoamila**

Observou-se que a produção de etanol foi superior para todas as leveduras. A maior produção ocorreu com a levedura comercial CA-11 (1319,9 mg/L) e para a *S. cerevisiae* (1179,8 mg/L) (TABELA 13).

A produção de etanol está diretamente relacionada ao aumento no teor de açúcares, porém, não houve produção de acetato de isoamila. Por isso a hidrólise enzimática do mosto foi descartada, para a produção de aguardente de banana.

O aumento da disponibilidade de açúcares pode ter causado um estresse osmótico, o que pode ter ocasionado uma mudança ou desvio da rota metabólica de produção de compostos de aroma de banana.

**TABELA 13: Resultados da produção de etanol e acetato de isoamila com tratamento enzimático.**

Leveduras	Voláteis	mg/L de headspace
<i>Pichia</i> sp.	Etanol acetato de isoamila	272,6 ±0,004 nd
<i>Hanseniaspora</i> sp.	Etanol acetato de isoamila	339,0 ±0,003 nd
<i>S. cerevisiae</i>	Etanol acetato de isoamila	1179,8 ±0,005 nd
<i>S. boulardii</i>	Etanol acetato de isoamila	750,4 ±0,003 nd
<i>Candida tropicalis</i>	Etanol acetato de isoamila	730,2 ±0,004 nd
<i>Kluyveromyces marcianus</i>	Etanol acetato de isoamila	788,7 ±0,004 nd
CA11	Etanol acetato de isoamila	1319,9 ±0,005 nd

nd = não detectado

#### 4.5 PRODUÇÃO DAS AGUARDENTES DE BANANA

A produção das aguardentes de banana foi estabelecida com base nos resultados dos estudos anteriores (itens 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4). Um total de 15 (quinze) diferentes aguardentes de banana foram produzidas.

A análise do headspace do mosto inicial, após fermentação, após filtração e das três frações obtidas na destilação é apresentada no ANEXO I.

No QUADRO 13 as aguardentes constam com as denominações e as características do mosto de banana e a levedura utilizada na fermentação.

**QUADRO 13: Denominações (AB = Aguardente de Banana) e características do mosto de banana com a levedura utilizada na fermentação.**

DENOMINAÇÃO DA AGUARDENTE DE BANANA	CARACTERÍSTICA DO MOSTO DE BANANA E LEVEDURA
AB- 1	banana com casca utilizando <i>Pichia</i> sp.
AB- 2	banana sem casca utilizando CA-11
AB- 3	casca da banana utilizando <i>Pichia</i> sp.
AB- 4	banana com casca com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto ( <i>Pichia</i> sp.). Vinhaça proveniente da aguardente AB-1
AB- 5	banana com casca com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto ( <i>Pichia</i> sp.). Vinhaça proveniente da aguardente AB -10
AB- 6	banana sem casca com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto (CA-11). Vinhaça proveniente da aguardente AB-1
AB- 7	banana com casca com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto ( <i>Pichia</i> sp.). Vinhaça proveniente da aguardente AB-10
AB - 8	banana com casca ( <i>Pichia</i> sp.) e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração
AB - 9	banana sem casca (CA11) e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração
AB - 10	fermentado e filtrado de banana com casca e banana sem casca – vinho proveniente de duas diferentes leveduras ( <i>Pichia</i> sp. e CA-11).
AB - 11	banana com casca utilizando <i>Hanseniaspora</i> sp.
AB - 12	banana sem casca utilizando <i>S. cerevisiae</i>
AB - 13	banana com casca utilizando <i>S. boulardii</i>
AB - 14	banana com casca utilizando <i>C. tropicalis</i>
AB - 15	banana com casca utilizando <i>K. marxianus</i>

A caracterização dos compostos voláteis das quinze aguardentes obtidas encontra-se na TABELA 14 e os que estão em amarelo tem odor de banana.



**TABELA 14: Comparação dos compostos voláteis identificados no *headspace* das 15 aguardentes de banana produzidas. Concentrações em mg/L de *headspace*.**

Compostos Voláteis	AB - 1	AB - 2	AB - 3	AB - 4	AB - 5	AB - 6	AB - 7	AB - 8	AB - 9	AB -10	AB -11	AB -12	AB -13	AB -14	AB -15
metanol	nd	0,5	1,9	1,0	0,9	1,6	9,4	3,1	2,0	0,9	0,7	0,2	0,4	0,1	0,2
acetaldeído - etanal	0,2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,1	nd	0,2	0,2
Etanol	413,5	414,8	412,9	413,7	413,6	413,9	413,7	413,5	413,6	414,0	413,4	1656,2	413,5	413,7	413,5
álcool-n-propílico	nd	nd	nd	nd	nd	0,2	0,7	0,5	1,7	0,2	nd	nd	nd	nd	nd
2,3-butanodiona	nd	nd	nd	nd	nd	3,5	3,8	nd	5,7	0,4	nd	nd	nd	0,9	nd
acetato de etila	76,5	0,8	145,5	26,5	12,7	3,5	2,8	90,1	3,3	1,2	18,7	0,7	0,8	0,2	0,6
2-metil-1-propanol	nd	nd	nd	9,1	4,4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
ácido acético	nd	nd	0,2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
n-butanol	nd	nd	0,8	1,2	nd	nd	0,5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2 - pentanona	2,9	0,3	1,0	0,5	0,4	nd	0,2	4,2	0,2	0,3	0,8	0,4	0,3	0,4	0,5
acetato de propila	nd	nd	nd	0,4	0,4	0,9	5,5	1,8	1,3	0,5	nd	nd	nd	nd	nd
3-metil-1-butanol	8,2	1,7	2,3	0,6	0,5	1,5	3,3	1,9	1,4	0,7	4,0	1,3	1,3	1,3	1,3
1-pentanol	nd	nd	nd	0,7	0,3	nd	0,4	0,7	nd	0,2	nd	nd	nd	nd	nd
acetato de isobutila	2,2	nd	0,4	nd	nd	nd	nd	1,4	0,3	0,8	1,1	nd	0,3	0,7	0,4
2-hexanol	0,7	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,3	nd	0,2	0,6	nd	nd	nd	nd
ácido butírico	nd	nd	nd	nd	nd	0,4	nd	nd	nd	0,2	nd	nd	nd	nd	nd
n-butil acetato	nd	nd	0,3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
não identificado	0,8	nd	0,2	0,3	0,2	nd	nd	0,4	0,2	0,7	0,6	nd	0,7	0,6	0,4
1-hexanol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,4	nd	nd	nd	nd	nd	2,9	nd
acetato de isoamila	13,5	0,3	5,7	2,8	1,2	0,2	0,4	11,0	2,3	5,6	3,3	1,3	2,8	0,2	2,9
2-octanona	nd	nd	0,5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,3	nd	nd	nd	nd
hexanoato de etila	0,8	nd	0,3	nd	nd	nd	nd	1,5	nd	0,3	0,2	nd	nd	nd	nd
acetato de hexila	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,3	nd	nd	nd	nd
não identificado	0,5	0,1	0,3	nd	0,3	nd	0,3	1,9	nd	0,6	0,8	1,0	0,9	1,4	1,0
não identificado	nd	nd	0,2	1,0	1,0	nd	nd	0,2	0,3	nd	0,2	0,3	0,3	0,1	0,2
octanoato de etila	2,7	nd	0,2	0,2	nd	nd	nd	nd	0,3	nd	nd	nd	nd	nd	nd
1-decanol	nd	nd	nd	nd	0,4	nd	0,4	0,2	0,4	0,3	0,7	nd	nd	nd	nd
ácido caprílico	0,2	nd	0,3	0,6	0,4	0,4	0,2	0,2	nd	0,2	nd	nd	nd	nd	nd
decanoato de etila	0,6	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	nd	0,4	nd	0,3	2,1	0,4	0,3	0,4	0,3

nd = não detectado

Composto volátil com odor de banana

O desvio padrão variou de 0,001 a 0,005.

- **AB- 1** Aguardente de banana com casca utilizando *Pichia sp.*
- **AB- 2** Aguardente de banana sem casca utilizando CA-11
- **AB- 3** Aguardente de banana com a casca da banana utilizando *Pichia sp.*
- **AB- 4** Aguardente de banana com casca com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto (*Pichia sp.*). Vinhaça proveniente da aguardente AB-1
- **AB- 5** Aguardente de banana com casca com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto (*Pichia sp.*). Vinhaça proveniente da aguardente AB -10
- **AB- 6** Aguardente de banana sem casca com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto (CA-11). Vinhaça proveniente da aguardente AB-1
- **AB- 7** Aguardente de banana com casca com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto (*Pichia sp.*). Vinhaça proveniente da aguardente AB-10
- **AB - 8** Aguardente de banana com casca (*P. sp.*) e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração.
- **AB - 9** Aguardente de banana sem casca (CA11) e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração.
- **AB - 10** Aguardente de banana, fermentado e filtrado de banana com casca e banana sem casca – vinho proveniente de duas diferentes leveduras (*Pichia sp.* e CA-11).
- **AB - 11** Aguardente de banana com casca utilizando *Hanseniaspora sp.*
- **AB - 12** Aguardente de banana sem casca utilizando *S. cerevisiae*
- **AB - 13** Aguardente de banana com casca utilizando *S. boulardii*
- **AB - 14** Aguardente de banana com casca utilizando *C. tropicalis*
- **AB - 15** Aguardente de banana com casca utilizando *K. marxianus*.

As classes de compostos voláteis detectados nas aguardentes de banana produzidas e seus respectivos aromas foram agrupados no QUADRO 14. A legislação apresenta os compostos em classes químicas não especificando os compostos individualmente, como por exemplo, a classe dos ésteres onde somente o acetato de etila é indicado.

**QUADRO 14: Classes de compostos voláteis detectados nas aguardentes de banana produzidas e seus respectivos aromas.**

CLASSE	COMPOSTO	AROMA	AGUARDENTE DE BANANA produzida
<b>Alcoóis</b>	metanol	Alcoólico	AB – 2, AB – 3, AB – 4, AB – 5, AB – 6, AB – 7, AB – 8, AB – 9, AB – 10, AB – 11, AB – 12, AB – 13, AB – 14, AB – 15.
	etanol	Alcoólico forte, éter médico	AB – 1, AB – 2, AB – 3, AB – 4, AB – 5, AB – 6, AB – 7, AB – 8, AB – 9, AB – 10, AB – 11, AB – 12, AB – 13, AB – 14, AB – 15.
	álcool-n-propílico	Fermentado alcoólico, mofo	AB – 6, AB – 7, AB – 8, AB – 9, AB – 10.
	2-metil-1-propanol	Etéreo avinhado	AB – 4, AB – 5.
	n-butanol	Óleo fúsel, bálsamo doce, banana	AB – 3, AB – 4.
	3-metil-1-butanol (álcool isoamílico)	Óleo fúsel, alcoólico, uísque de banana, frutado	AB – 1, AB – 2, AB – 3, AB – 8, AB – 9, AB – 10, AB – 11, AB – 12, AB – 13, AB – 14, AB – 15.
	1-pentanol	Óleo fúsel, bálsamo doce	AB – 4, AB – 5, AB – 7, AB – 8, AB – 9, AB – 10.
	2-hexanol	Avinhado, herbáceo	AB – 1, AB – 8, AB – 9, AB – 10, AB – 11.
	1-hexanol	Etéreo, óleo fúsel, frutado, alcoólico, doce	AB – 8, AB – 9.
	1-decanol	Gordura, cera, flora de laranja doce	AB – 5, AB – 7, AB – 8, AB – 9, AB – 10, AB – 11.
<b>Aldeídos</b>	acetaldeído	Pungente, nota de noz, alcoólico quando diluído	AB – 1, AB – 3, AB – 12, AB – 14, AB – 15.
<b>Cetonas</b>	2,3-butanodiona	Manteiga forte, doce cremoso de caramelo, picante	AB – 6, AB – 7, AB – 9, AB – 10, AB – 11, AB – 12, AB – 13, AB – 14, AB – 15.
	2 - pentanona	Frutado doce, amadeirado, etéreo, vinho de banana	AB – 1, AB – 2, AB – 3, AB – 4, AB – 5, AB – 7, AB – 8, AB – 9, AB – 10, AB – 11, AB – 12, AB – 13, AB – 14, AB – 15.
	2-octanona	Madeira fina, erva natural	AB – 1, AB – 2, AB – 3, AB – 4, AB – 5, AB – 6, AB – 7, AB – 8, AB – 9, AB – 10, AB – 14.
<b>Ácidos carboxílicos</b>	ácido acético	Picante forte, vinagre, azedo	AB – 3.
	ácido caprílico	Cera vegetal, queijo rançoso	AB – 1, AB – 2, AB – 3, AB – 4, AB – 5, AB – 6, AB – 7, AB – 8, AB – 9, AB – 10.
<b>Ésteres</b>	acetato de etila	Etéreo frutado doce, erva daninha	AB – 1, AB – 2, AB – 3, AB – 4, AB – 5, AB – 6, AB – 7, AB – 8, AB – 9, AB – 10, AB – 11, AB – 12, AB – 13, AB – 14, AB – 15.
	acetato de propila	Aipo, frutado fúsel, framboesa, pêra	AB – 4, AB – 5, AB – 6, AB – 7, AB – 8, AB – 10, AB – 11.
	acetato de isobutila	Doce de banana. frutado etéreo	AB – 1, AB – 3, AB – 8, AB – 10, AB – 11, AB – 13, AB – 14, AB – 15.
	acetato de isoamila	Frutado doce de banana	AB – 1, AB – 2, AB – 3, AB – 4, AB – 5, AB – 6, AB – 7, AB – 8, AB – 10, AB – 11, AB – 12, AB – 13, AB – 14, AB – 15.
	hexanoato de etila	Doce frutado, abacaxi, banana verde, cera	AB – 1, AB – 3, AB – 8, AB – 10, AB – 11.
	acetato de hexila	Frutado doce de banana, maçã verde	AB – 11
	octanoato de etila	Vinho frutado doce, de damasco, de banana, aguardente de pêra	AB – 1, AB – 3, AB – 4.
	decanoato de etila	Doce de cera, frutado de maçã, uva brandy	AB – 1, AB – 3, AB – 4, AB – 5, AB – 6, AB – 8, AB – 10, AB – 11, AB – 12, AB – 13, AB – 14, AB – 15.

As principais substâncias que oferecem perigo para a saúde humana e que podem comprometer a qualidade sensorial de bebidas destiladas podem ter origem orgânica (álcool butílico, álcool sec-butílico, acroleína, carbamato de etila, diacetil e metanol) ou inorgânica (arsênio, chumbo e cobre). Esses compostos não foram analisados nas aguardentes de banana, com exceção do metanol. Os metais contaminantes não foram investigados, pois o destilador (Alambique de Femel) utilizado era de vidro, pressupondo-se a ausência desses nas aguardentes de banana.

Os alcoóis detectados no *headspace* das aguardentes de banana produzidas foram: metanol, etanol, álcool-n-propílico, 2-metil-1-propanol, n-butanol, 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico), 1-pentanol, 2-hexanol, 1-hexanol, 1-decanol.

O metanol com teores acima do permitido por legislação foi detectado nas aguardentes: AB-3 (1,9 mg/L de *headspace*) aguardente produzida somente da casca da banana; AB-8 (3,1 mg/L de *headspace*) e AB-9 (2,0 mg/L de *headspace*).

Alvarenga (2006) encontrou teores de metanol de 79,4 mg por 100 mL de a.a. Valores estes acima do permitido pela legislação brasileira vigente que estabelece o valor máximo de 40 mg de metanol para cada 100 mL de a.a. Valores de 420,7; 145,6 e 76,3 mg de metanol /100 mL de a.a., foram encontrados em aguardentes de banana por Guimaraes Filho (2003), Silva (2004) e Lara (2007), respectivamente.

O aldeído detectado nas aguardentes de banana produzidas foi o etanal (acetaldeído), sendo nas aguardentes AB-1 (0,2 mg/L de *headspace*), AB-12 (0,1 mg/L de *headspace*), AB-14 (0,2 mg/L de *headspace*) e AB-15 (0,2 mg/L de *headspace*).

As cetonas detectadas nas aguardentes de banana produzidas foram: 2,3-butanodiona, 2 – pentanona, e 2-octanona.

Os ácidos carboxílicos detectados nas aguardentes de banana produzidas foram o ácido acético e o ácido caprílico.

Os ésteres detectados nas aguardentes de banana produzidas foram: acetato de etila, acetato de propila, acetato de isobutila, acetato de isoamila e hexanoato de etila. Marques e Pastore (1999) relatam que entre os compostos mais

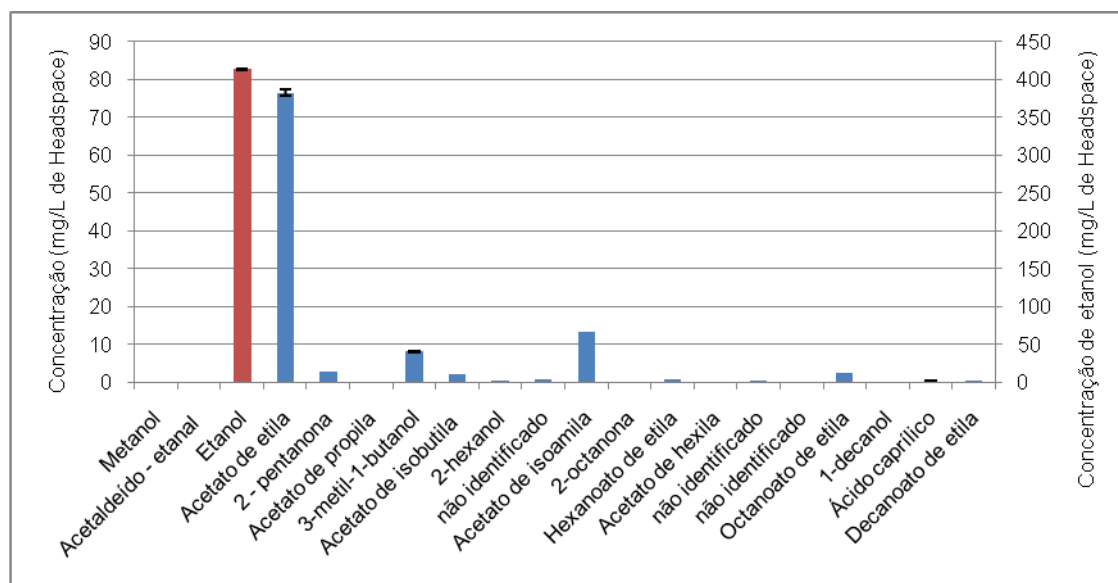
importantes na indústria de aromas de alimentos destacam-se os ésteres, que conferem diversos aromas desde flores e frutas a alimentos fermentados.

A presença de ésteres, como o acetato de etila e o acetato de butila, em meios de cultivo tem sua formação admitida como tradutora de um metabolismo de detoxificação por meio do qual o microrganismo impede o acúmulo de compostos tóxicos, como ácidos graxos de cadeia curta e alcoóis de fusel (propanol, isobutanol, álcool amílico e isoamílico). A produção de acetatos acontece como uma forma de detoxificação do meio da conversão de ácido acético e de alcoóis superiores. (LATRASSE *et al.*, 1985).

Duas rotas metabólicas podem ser seguidas na formação de ésteres: alcoólise de compostos de Acyl-CoA e esterificação direta de um ácido orgânico. A primeira rota é percebida predominantemente em leveduras e a segunda em fungos filamentosos e bactérias. (WELSH *et al.*, 1995).

#### 4.5.1 Produção da aguardente de banana com casca (*Pichia sp.*) (AB-1)

A produção da aguardente de banana com casca com a levedura *Pichia sp.* apresentou grande quantidade de aromas característicos de 'banana' (TABELA 14), como o acetato de isoamila 13,5 mg/L de *headspace*, o 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico), 8,2 mg/L. No GRÁFICO 2 encontram-se os compostos voláteis da aguardente.

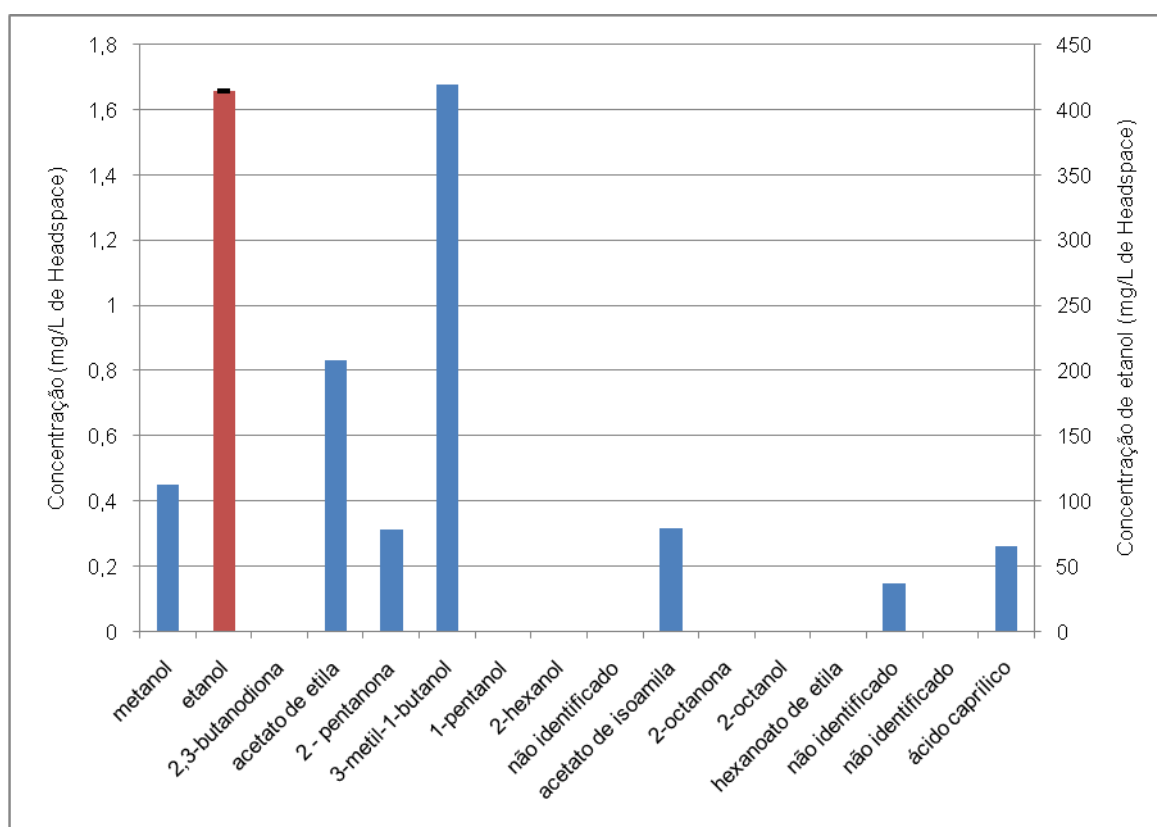


**GRÁFICO 2:** Compostos voláteis identificados no *headspace* da aguardente de banana em mosto banana com casca, fermentado por *Pichia sp.* Concentrações em mg/L de *headspace*.

Esta cepa foi boa produtora de etanol, resultando numa aguardente com 36° GL (413,5 mg/L de etanol). Entretanto, a produção de etanol foi menor quando comparada com a produção da levedura comercial CA-11.

#### 4.5.2 Produção da aguardente de banana sem casca (CA-11) (AB-2)

A produção da aguardente de banana sem casca com a levedura comercial CA-11 apresentou 414,8 mg/L etanol (quantidade apresentada na aguardente com 36° GL). Porém baixa produção de acetato de isoamila, apenas 0,3 mg/L, sendo que o mosto inicial apresentava 1,3 mg/L (Gráfico 1). Ou seja, o principal composto característico de banana presente na aguardente, pode ter sido proveniente da própria fruta e não como produto da fermentação pela levedura comercial CA-11. Os demais resultados encontram-se no GRÁFICO 3.

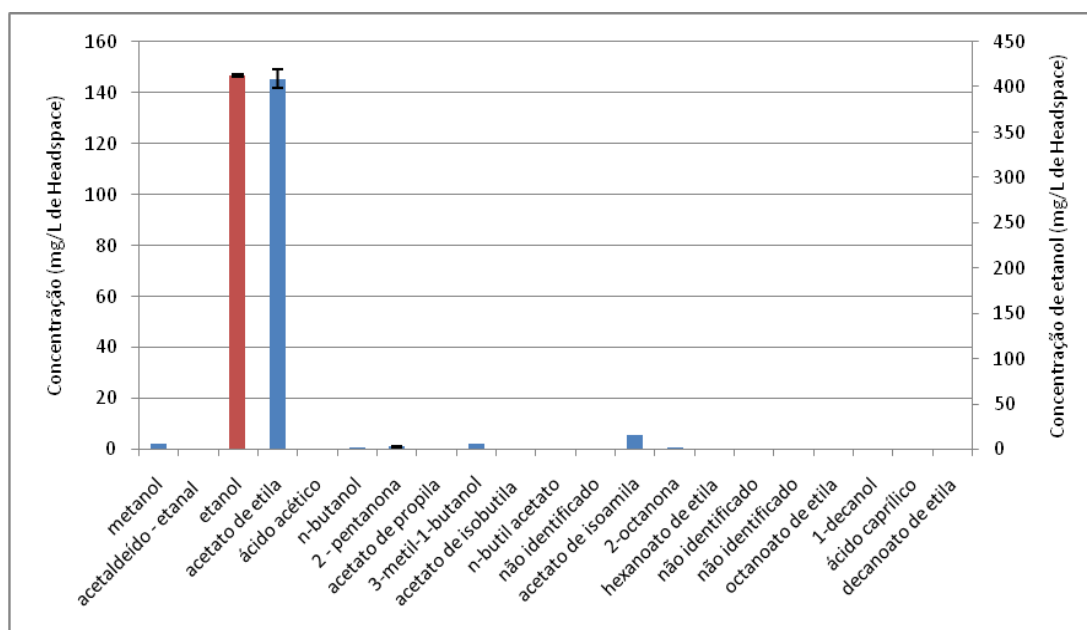


**GRÁFICO 3:** Compostos voláteis identificados no *headspace* da aguardente de banana em mosto banana sem casca, fermentado por CA-11. Concentrações em mg/L de *headspace*.

#### 4.5.3 Produção da aguardente de banana em mosto de casca de banana (*Pichia* sp.) (AB-3)

A produção da aguardente utilizando o como mosto a casca de banana foi realizada com a levedura *Pichia* sp..

A análise do *headspace* apresentou grande quantidade de compostos aromas característicos de 'banana' e os compostos voláteis da aguardente encontram-se no Gráfico 4.



**GRÁFICO 4:** Compostos voláteis identificados no *headspace* da aguardente de banana em mosto com a casca de banana, fermentado por *Pichia* sp. Concentrações em mg/L de *headspace*.

A maior quantidade do acetato de etila, com 145,4 mg/L, apresentada nesta aguardente, provavelmente irá conferir-lhe aroma acentuado frutal e de ervas frescas, conforme TABELA 2.

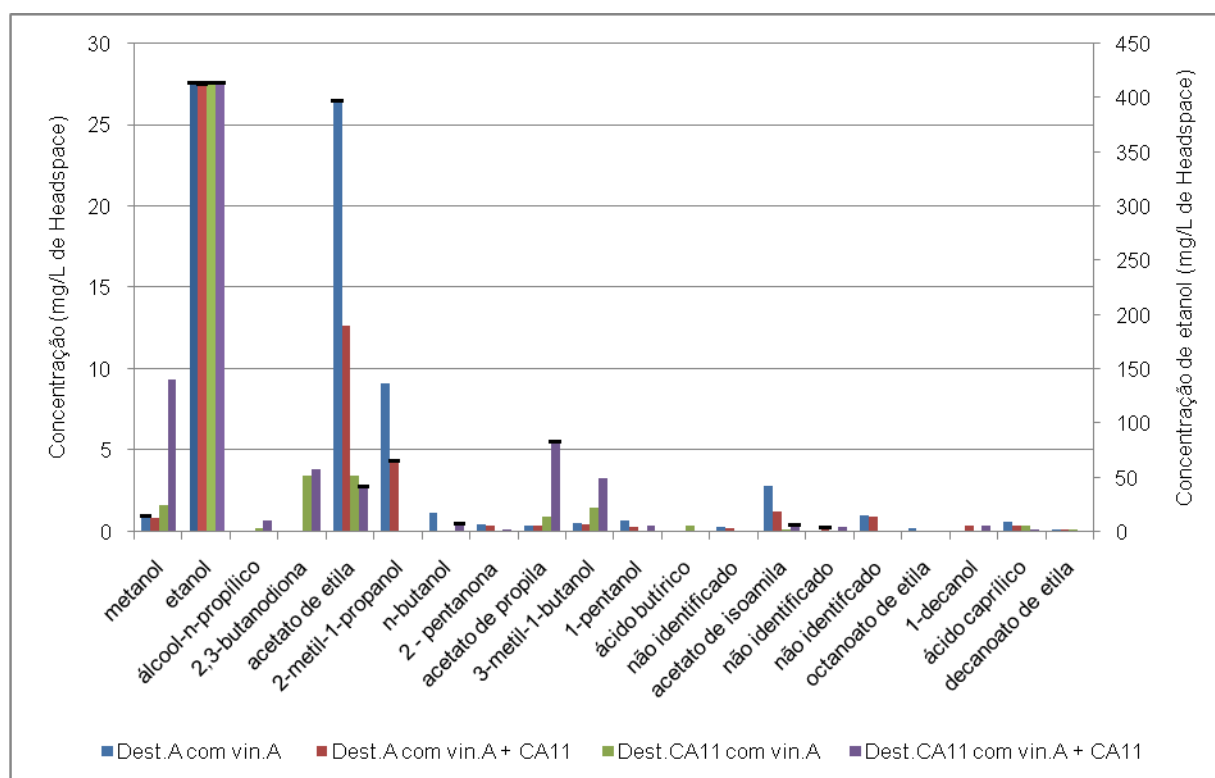
A quantidade de acetato de isoamila de 5,7 mg/L de *headspace*, apresentada na aguardente é devido ao processo de concentração/destilação em menor volume.

#### 4.5.4 Produção da aguardente de banana com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto

As produções da aguardente de banana com o reaproveitamento da vinhaça, em substituição à água adicionada ao mosto, produziram quatro aguardentes:

- **AB- 4** (Dest. A com vin. A) - Aguardente de banana com casca com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto (*Pichia* sp.). Vinhaça proveniente da aguardente AB-1
- **AB- 5** (Dest. A com vin. A+CA-11) Aguardente de banana com casca com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto (*Pichia* sp.). Vinhaça proveniente da aguardente AB -10
- **AB- 6** (Dest. CA-11 com vin. A) Aguardente de banana sem casca com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto (CA-11). Vinhaça proveniente da aguardente AB-1
- **AB- 7** (Dest. CA-11 com vin. A+CA-11) Aguardente de banana com casca com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto (*Pichia* sp.). Vinhaça proveniente da aguardente AB-10

A comparação dos resultados da análise dos compostos voláteis das quatro aguardentes produzidas encontram-se no GRÁFICO 5.



**GRÁFICO 5:** Compostos voláteis identificados no *headspace* da aguardente da banana com casca e levedura *Pichia* sp. e banana sem casca, levedura CA-11, com reaproveitamento da vinhaça A e vinhaça A+CA-11 compondo o mosto. Concentrações em mg/L de *headspace*.

O reaproveitamento da vinhaça em substituição a água compondo o mosto de banana, na proporção de 1:1 permitiu não descartar esse resíduo e economia de



água. Observou-se ainda que a diluição do mosto com a vinhaça facilitou a dispersão da levedura no mosto.

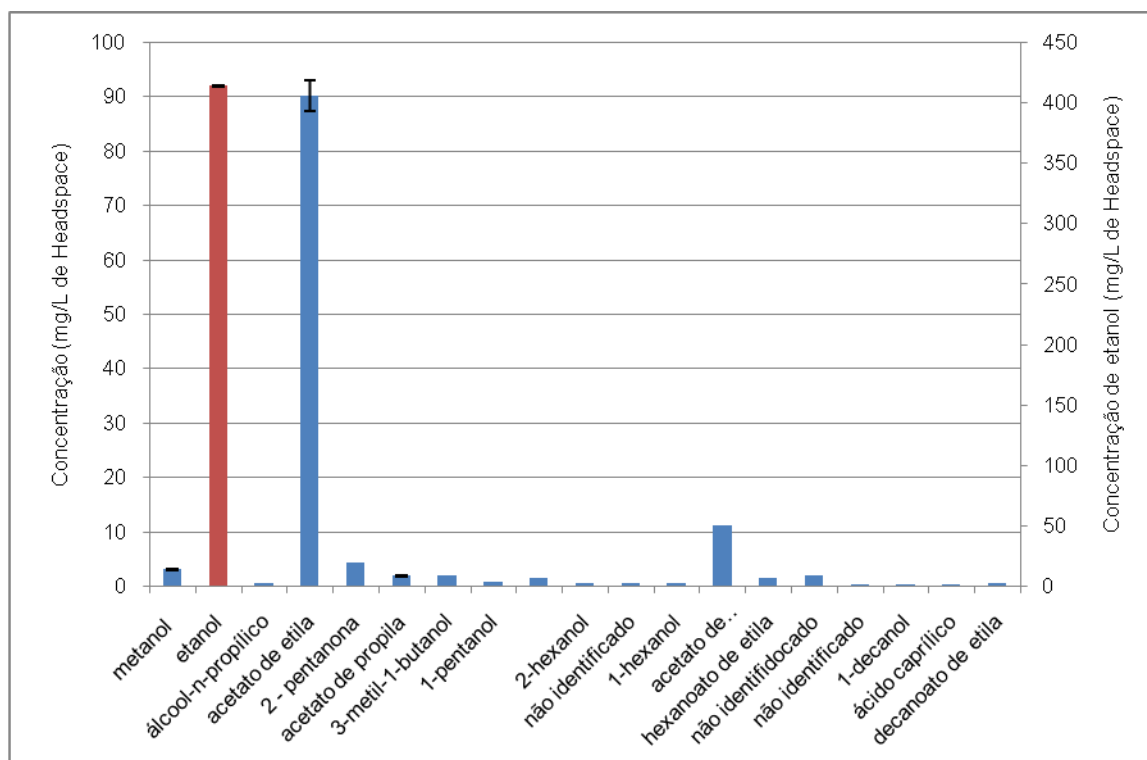
As aguardentes AB-4 e AB-5 fermentadas com a levedura *Pichia* sp. apresentaram melhores resultados na produção de acetato de isoamila que as aguardentes AB-6 e AB-7, fermentadas com a levedura CA-11, que obtiveram melhores rendimentos em etanol comparadas com as mesmas.

#### 4.5.5 Produção da aguardente de banana com casca (*Pichia* sp.) com reaproveitamento de vinhaça na diluição do fermentado (AB-8)

A adição da vinhaça no mosto fermentado de banana com casca, levedura *Pichia* sp. facilitou o processo de destilação e a etapa de filtração pode ser eliminada.

Quando o mosto fermentado apresentava aspecto homogêneo, sem separação de fases, optou-se pela diluição com vinhaça e destilação direta.

Os resultados de compostos voláteis da aguardente estão apresentados no GRÁFICO 6.



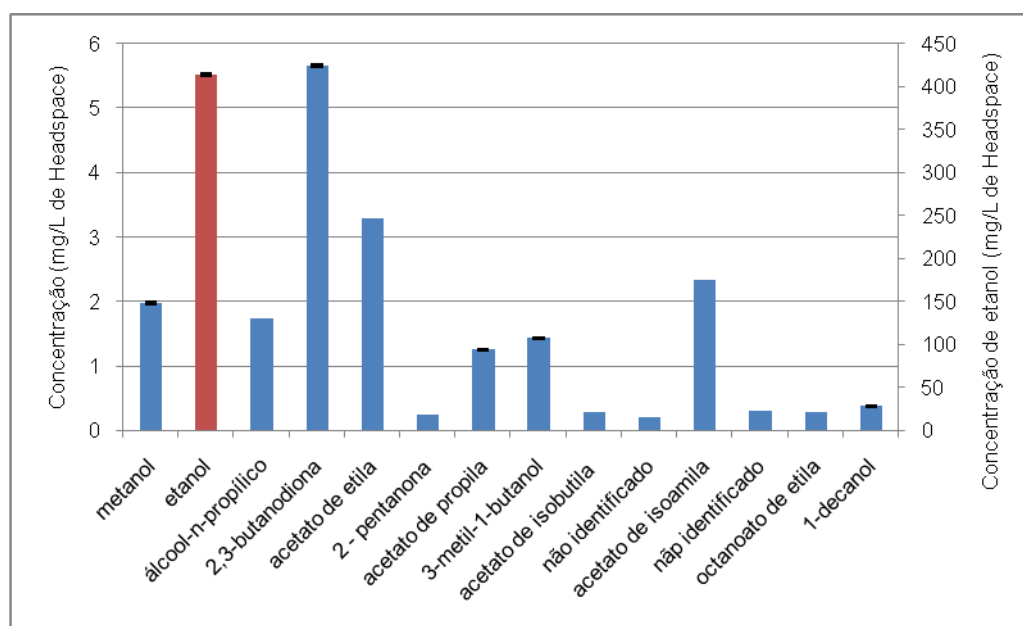
**GRÁFICO 6:** Compostos voláteis identificados no *headspace* da aguardente de banana com casca, fermentado com a levedura *Pichia* sp. e reaproveitamento de vinhaça. Concentrações em mg/L de *headspace*.

Devido a fermentação não apresentar a etapa tumultuosa acentuada, não houve a separação de fases.

O contato direto do mosto com a fonte de calor, no final da destilação, causava aderência do mosto no recipiente.

#### 4.5.6 Produção da aguardente de banana sem casca (CA11) e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado (AB-9)

A produção da aguardente de banana com o reaproveitamento da vinhaça para diluição do fermentado, do mosto de banana sem casca com inóculo da levedura comercial CA-11, facilitou a destilação direta sem filtração para remoção dos sólidos. Os resultados são apresentados 'no GRÁFICO 7.



**GRÁFICO 7: Compostos voláteis identificados no *headspace* da aguardente de banana sem casca, fermentada com a levedura comercial CA-11 com reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado. Concentrações em mg/L de *headspace*.**

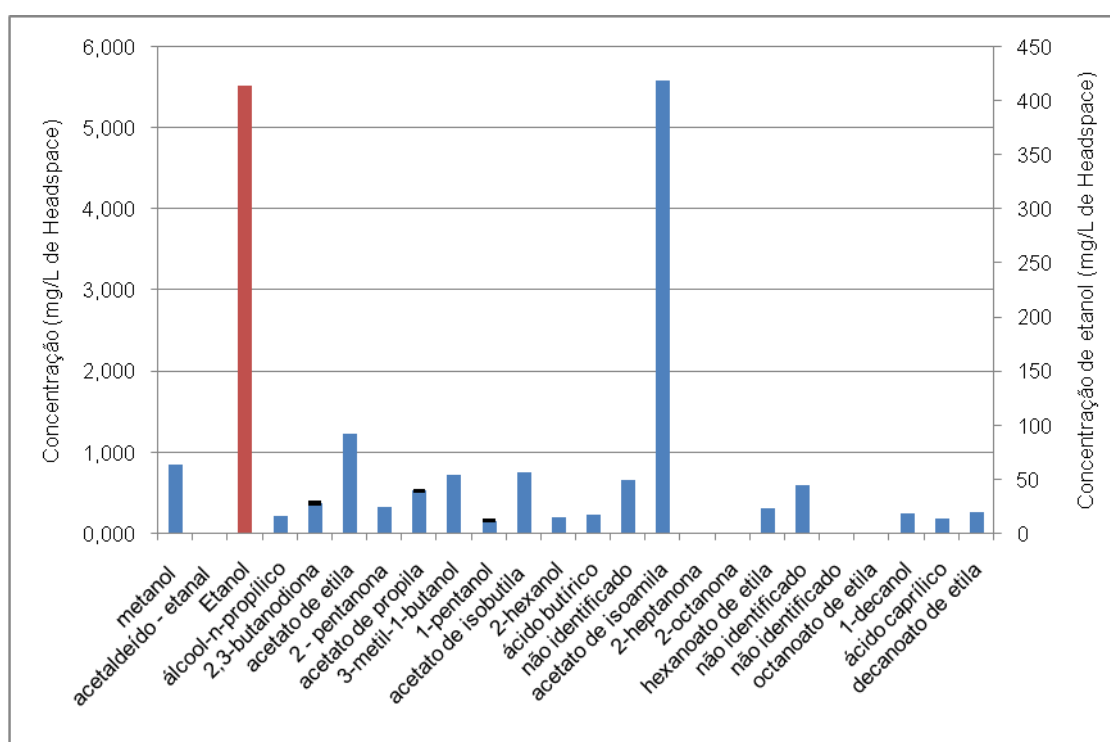
A diluição do mosto fermentado com reaproveitamento da vinhaça diminuiu a viscosidade e facilitou o processo da destilação.

#### 4.5.7 Produção da aguardente de banana– inóculo com *Pichia* sp. e do mosto da banana sem casca - inóculo com a comercial CA-11 (AB-10)

A aguardente de banana produzida foi proveniente da junção do filtrado (vinho) do mosto de banana com casca, utilizando inóculo da levedura *Pichia* sp. e, do mosto da banana sem casca com inóculo da levedura comercial CA-11.

A combinação desses vinhos destilado juntos produziu uma aguardente de banana (36° GL) com boa produção de etanol (414,0 mg/L de *headspace*), bem como, em aromas característicos de banana, acetato de isoamila com 5,6 mg/L de *headspace*.

Os resultados dos compostos voláteis da aguardente encontram-se no GRÁFICO 8.



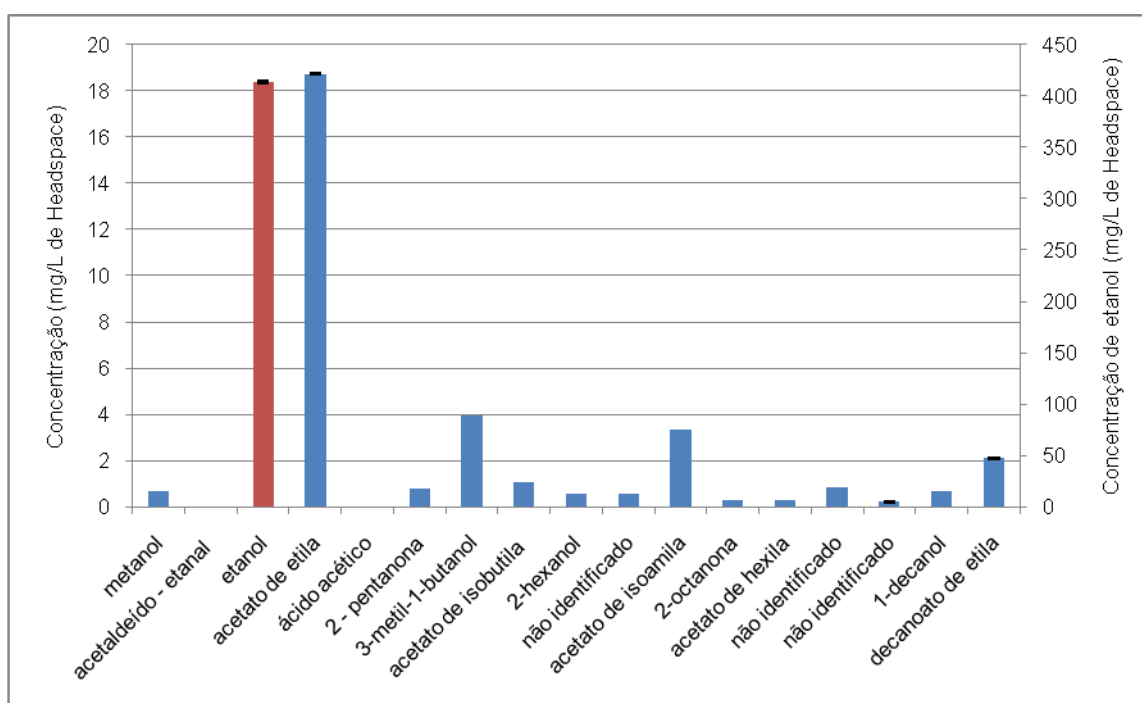
**GRÁFICO 8:** Compostos voláteis identificados no *headspace* da aguardente de banana, obtida com o fermentado e o filtrado de banana com casca e banana sem casca – vinho proveniente de duas diferentes leveduras. Concentrações em mg/L.

#### 4.5.8 Aguardente de banana com casca - *Hanseniaspora* sp. (AB-11)

A produção da aguardente de banana com casca com a levedura *Hanseniaspora* sp. apresentou aromas característicos de 'banana', como o 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico), com 231,3 mg/L e o acetato de isoamila, com 4,0 mg/L.

A presença do acetato de etila, com 18,7 mg/L, acrescentou ao aroma dessa aguardente o odor frutal (TABELA 2). O principal éster da cachaça é o acetato de etila, responsável pelo aroma frutal, que é desejável. (PINHEIRO, 1999).

No GRÁFICO 9 encontram-se os compostos voláteis da aguardente.



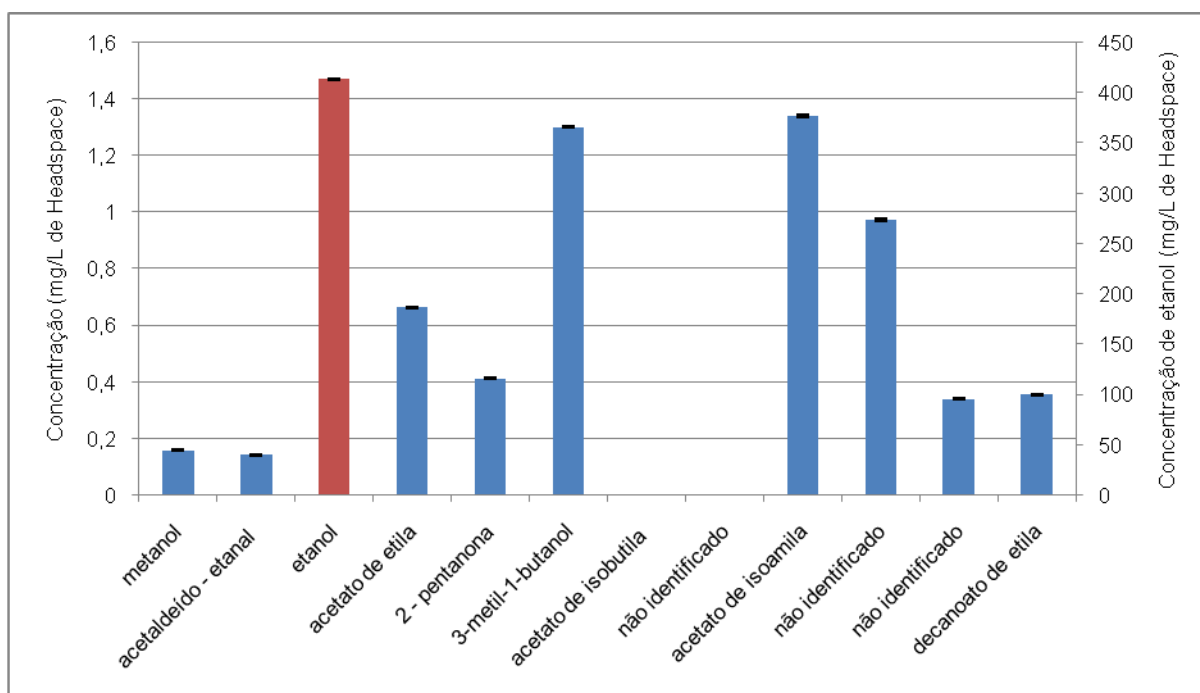
**GRÁFICO 9:** Compostos voláteis identificados no *headspace* da aguardente de banana com casca fermentado por *Hanseniaspora* sp. Concentrações em mg/L de *headspace*.

#### 4.6.9 Aguardente de banana sem casca - *S. cerevisiae* (AB-12)

A produção da aguardente de banana sem casca com a levedura *S. cerevisiae* apresentou pouca quantidade de aromas característicos de 'banana'

(TABELA 15). Houve presença de acetato de isoamila, com 1,3 mg/L, e etanol, com 413,7 mg/L de *headspace*.

O teor de etanol é similar se comparado com a produção da aguardente de banana com a levedura comercial CA-11, com 414,8 mg/L de *headspace* (quantidade apresentada na aguardente com 36º GL). No GRÁFICO 10 encontram-se os compostos voláteis da aguardente.

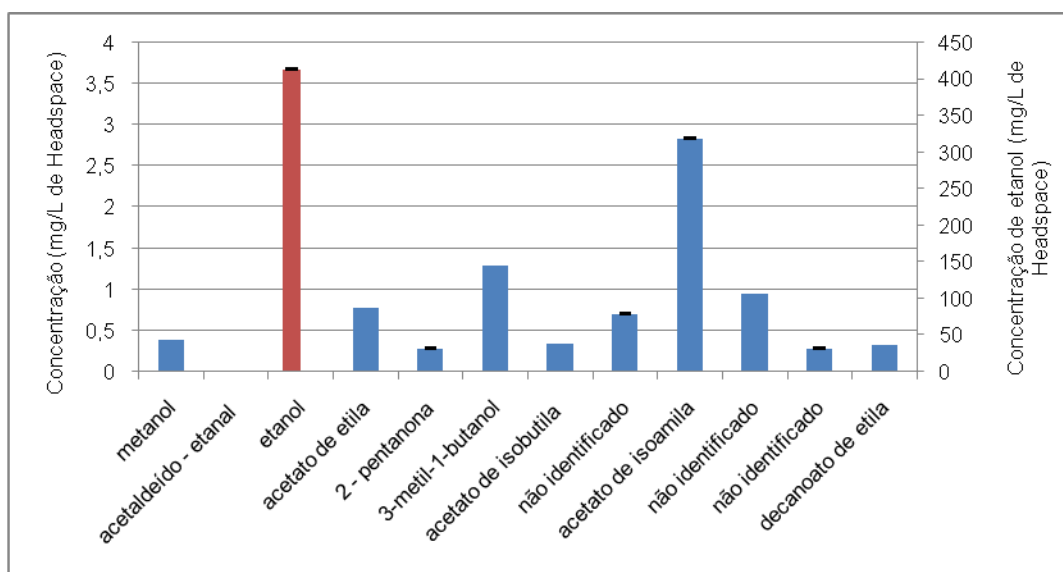


**GRÁFICO 10:** Compostos voláteis identificados no *headspace* da aguardente de banana sem casca, fermentado por *S. cerevisiae*. Concentrações em mg/L de *headspace*.

#### 4.5.10 Aguardente de banana com casca - *S. boulardii* (AB-13)

A produção da aguardente de banana com casca com a levedura *S. boulardii* apresenta aromas característicos de 'banana' como 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico) 1,3 mg/L de *headspace* e acetato de 2,8 mg/L de *headspace*, produtora de etanol 413,5 mg/L de *headspace*.

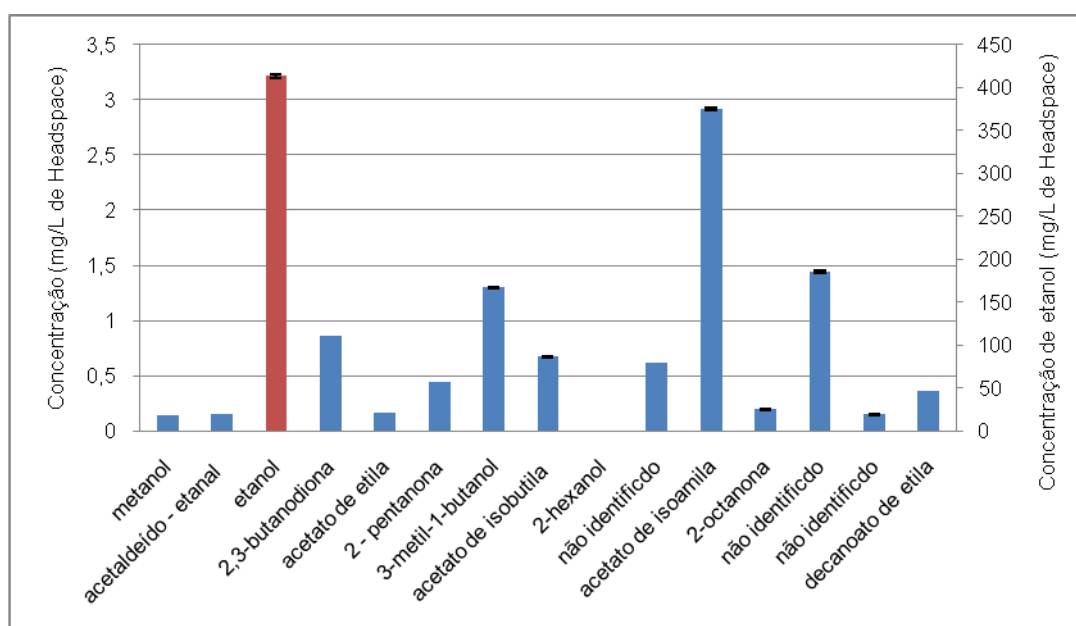
No GRÁFICO 11 encontram-se os compostos voláteis da aguardente.



**GRÁFICO 11:** Compostos voláteis identificados no *headspace* da aguardente de banana com casca, fermentado por *S. boulardii*. Concentrações em mg/L de *headspace*.

#### 4.5.11 Aguardente de banana com casca – *Candida tropicalis* (AB-14)

A produção da aguardente de banana com casca com a levedura *C. tropicalis* apresenta aromas característicos de 'banana', como 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico) 1,3 mg/L de *headspace* e acetato de isoamila 2,9 mg/L de *headspace*, produtora de etanol 413,7 mg/L de *headspace*. No GRÁFICO 12 encontram-se os compostos voláteis da aguardente.

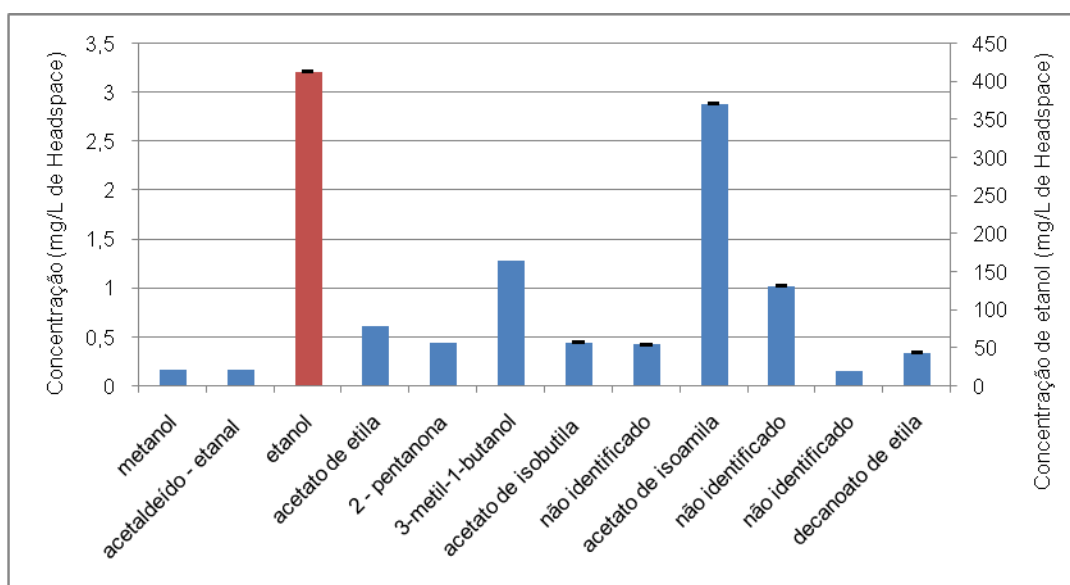


**GRÁFICO 12:** Compostos voláteis identificados no *headspace* da aguardente de banana com casca, fermentado por *C. tropicalis*. Concentrações em mg/L de *headspace*.

#### 4.5.12 Aguardente de banana com casca – *Kluyveromyces marxianus* (AB-15)

A produção da aguardente de banana com casca com a levedura *K.marxianus* apresenta aromas característicos de ‘banana’, como 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico) 1,3 mg/L de *headspace* e acetato de isoamila 2,9 mg/L de *headspace*, produtora de etanol 413,5 mg/L de *headspace*.

No GRÁFICO 13 encontram-se os compostos voláteis da aguardente.



**GRÁFICO 13:** Compostos voláteis identificados no *headspace* da aguardente de banana com casca, fermentado por *K. marxianus*. Concentrações em mg/L de *headspace*.

#### 4.6 ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL DAS AGUARDENTES DE BANANA PRODUZIDAS

A acidez total titulável é representada em ácido acético e o teor permitido em aguardentes, por legislação (BRASIL - MAPA, 2005) é de < 0,15 g /100 mL de álcool anidro. O resultado da acidez total titulável das aguardentes produzidas encontram-se na TABELA 16.

Observa-se que somente a aguardente AB-3 (aguardente de banana produzida com a casca da banana) foi detectada ácido acético 0,2 mg/L de *headspace* (TABELA 14). Na TABELA 15 observa-se o teor de acidez na aguardente da AB-3 detectado foi de 0,336 g/100 mL de ácido acético, acima do limite estabelecido pela legislação.

**TABELA 15: Resultado da acidez total titulável das aguardentes produzidas**

<b>Aguardentes</b>	<b>Acidez (g/100 mL de ácido acético)</b>
AB-1	0,048
AB-2	0,024
AB-3	0,336
AB-4	0,072
AB-5	0,048
AB-6	0,072
AB-7	0,020
AB-8	0,048
AB-9	0,072
AB-10	0,048
AB-11	0,024
AB-12	0,088
AB-13	0,048
AB-14	0,048
AB-15	0,024

#### 4.7 RENDIMENTOS NA PRODUÇÃO DE AGUARDENTES DE BANANA

Os rendimentos do etanol e do acetato de isoamila foram calculados de acordo com os itens 3.14.1 e 3.14.2, respectivamente.

##### 4.7.1 Rendimento do etanol nas aguardentes de bananas produzidas

Os resultados do rendimento do etanol ( $Y$ ), em relação ao açúcar consumido, para cada aguardente de banana produzida encontram-se na TABELA 16 e, também, os resultados da eficiência ( $E$ ), respectivamente.

As aguardentes produzidas com banana sem casca, utilizando a levedura comercial CA-11 e a levedura *S. cerevisiae*, para a fermentação, tiveram rendimentos entre 83,1% e 99,8. Para o rendimento na relação produção de etanol e açúcar redutor consumido, a aguardente de banana com maiores índices foram para AB-6 e AB-7 (com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto e fermentado com a levedura comercial CA11), com 99,2 % e 99,8 %, respectivamente.



TABELA 16: Rendimentos do etanol nas aguardentes de banana

AGUARDENTES DE BANANA	Y	Σ EFICIÊNCIA
	RENDIMENTO % (Açúcar/etanol)	% (Produção de etanol)
AB-1 Aguardente de banana com casca ( <i>Pichia</i> sp.)	47,4	9,2
AB-2 Aguardente de banana sem casca (CA-11)	99,1	19,3
AB-3 Aguardente de banana somente com a casca da banana ( <i>Pichia</i> sp.)	48,0	9,3
AB-4 Aguardente de banana com casca ( <i>Pichia</i> sp.) com reaproveitamento de vinhaça (A) compondo o mosto	48,5	9,4
AB-5 Aguardente de banana com casca ( <i>Pichia</i> sp.) com reaproveitamento de vinhaça (A + CA-11) compondo o mosto	51,7	10,1
AB-6 Aguardente de banana sem casca (CA-11) com reaproveitamento de vinhaça (A) compondo o mosto	99,2	19,8
AB-7 Aguardente de banana sem casca (CA-11) com reaproveitamento de vinhaça (A + CA-11) compondo o mosto	99,8	21,4
AB-8 Aguardente de banana com casca ( <i>Pichia</i> sp.) e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração	42,5	8,3
AB-9 Aguardente de banana sem casca (CA11) e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração	86,3	16,8
AB-11 Aguardente de banana com casca - <i>Hanseniaspora</i> sp.	46,7	9,1
AB-12 Aguardente de banana sem casca - <i>S. cerevisiae</i>	83,1	16,1
AB-13 Aguardente de banana com casca - <i>S. boulardii</i>	46,0	9,0
AB-14 Aguardente de banana com casca – <i>C. tropicalis</i>	46,0	9,0
AB-15 Aguardente de banana com casca – <i>K. marxianus</i>	45,3	8,8

A levedura *S. cerevisiae* são produtoras de etanol, mais tolerantes aos produtos da fermentação e mudanças de pH no decorrer do processo fermentativo, devido a esses aspectos, propiciam melhores rendimentos em etanol. (DUARTE *et al.*, 2010).

Para Lara (2007) a polpa de banana utilizada apresentou-se com um teor de açúcares redutores de 149,85 g L<sup>-1</sup>. Considerando a densidade do etanol a 20 °C (d=0,78 g m L<sup>-1</sup>), o rendimento em etanol da fermentação foi de 71%, teor alcoólico

de 38,0 °GL, valor situado na parte inferior da escala definida na legislação (36 a 54 °GL).

Alvarenga (2011) na produção de aguardente de banana com quatro diferentes tratamentos na banana e levedura *S. cerevisiae* obteve os seguintes rendimentos de etanol: PN (polpa sem tratamento prévio) 83,08 %; PF (polpa filtrada) 85,49%; PH (polpa hidrolisada) 89,37 e PFH (polpa filtrada e hidrolisada) 90,81%. A Aguardente AB-12 (levedura *S. cerevisiae*) houve um rendimento de 83,1 % e na Aguardente AB-2 (levedura CA-11) um rendimento de 99,1%, como foi verificado somente os açúcares redutores, provavelmente a levedura utilizou outros açúcares, o que aumentou o rendimento.

Os valores de eficiência obtidos por Alvarenga (2006) na fermentação de polpa de manga para produção de aguardente variaram de 84,20 a 93,09%.

Oliveira *et al.* (2004), comparando linhagens de leveduras *S. cerevisiae* para produção de cachaça, encontrou valores que variaram entre 48,9% e 90,5%, utilizando 150 g L<sup>-1</sup> de glicose como substrato por 24 h a 30°C.

Mendonça (1999 *apud* ALVARENGA, 2011), também, em estudo de fermentações alcoólicas em meio sintético contendo glicose, obteve rendimento em etanol, variando entre 72,08% a 90,38%, após 12 horas de fermentação.

Na fermentação de suco de laranja para produção de vinho de laranja, Okunowo *et al.* (2007), encontraram valores de eficiência que variaram de 70,88 a 99,46 %, utilizando linhagens de leveduras *S. cerevisiae* e *S. carlsbergensis*.

Silva *et al.* (2006), estudando a fermentação de linhagens floculantes de *S. cerevisiae* e sua influência nos parâmetros fermentativos, encontraram em meio contendo 150 g L<sup>-1</sup> de sacarose por 24 h a 30°C, níveis de eficiência de 76,09 a 85,92%.

Alves (2011) na aguardente de cajarana obteve um rendimento de 2,31%, com teor de etanol de 28,94 °GL, fora da legislação, o fruto (cajarana) apresenta baixa quantidade de substrato (açúcares) para se converter em álcool o que indica que a quantidade de álcool formado é diretamente proporcional a quantidade de açúcares fermentáveis.

Cardoso (2006) encontrou um rendimento de aguardente de cana-de-açúcar que varia de 15 a 17% do “vinho” para aguardente com 38-54% de etanol.

Outros trabalhos sobre aguardentes de frutas ou de outras matérias-primas apresentaram o teor alcoólico dentro do padrão exigido pela legislação brasileira. O rendimento do etanol não foi especificado.

Como na aguardente de jabuticaba produzida por Asquieri; Silva e Cândida (2009), o teor alcoólico foi de 39 °GL. As aguardentes de cana-de-açúcar estudadas por Miranda *et al.* (2007), tinham em média um teor alcoólico de 40,23 °GL; a aguardente de mandioca produzida por Vilhalva *et al.* (2013), o teor alcoólico foi de 43°GL; Silva Júnior *et al.* (2006) produziram em laboratório aguardente de abacaxi, com teor de etanol de 47%. Campos (2011) na obtenção de aguardente de mel o teor alcoólico ficou em 43%. Guimarães (2013) produziu aguardente do sorgo sacarino com teor de 39 °GL e informou que os teores alcoólicos do vinho das amostras apresentaram valores médios entre 5,7% e 7,6% (v/v) de álcool. Baixos teores alcoólicos do fermentado podem ser ocasionados por contaminação ou pela acidificação do meio pelas próprias leveduras que produzem ácido acético a partir do etanol. (MAIA e CAMPELO, 2006). Segundo Maia e Campelo (2006) o teor alcoólico do vinho encontrado na aguardente de cana deve ser em torno de 6,8% a 8,5%.

A eficiência do etanol produzido pela produção de etanol teórico em relação ao açúcar redutor, nas aguardentes produzidas, ficou entre 8,3% e 19,5%.

Os valores maiores foram encontrados nas aguardentes produzidas com o mosto de banana sem casca e as leveduras CA-11 e *S. cerevisiae* LPB-293.

Oliveira (2001) estudando as leveduras utilizadas na produção de bebidas alcoólicas constatou que elas (*S. cerevisiae*) devem apresentar alta tolerância ao álcool para ocorrer bom rendimento. Na produção de etanol com a comercial CA-11 também constatou-se sua alta tolerância ao etanol, consequentemente houve melhor eficiência nas aguardentes AB-2 (19,3%), AB-6 (19,4%), AB-7 (19,5%), AB-9 (16,8%) e AB-12 (16,1%).

As demais aguardentes de banana produzidas tiveram a eficiência entre 8,3% e 10,1%. A baixa eficiência provavelmente está relacionada aos gêneros das leveduras que produzem etanol e não têm tolerância a altas concentrações de etanol. (FLEET e HEARD, 1993; FLEET, 2003; FUGELSANG e EDWARDS, 2007; MOREIRA, MENDES, GUEDES DE PINHO, HOGG e VASCONCELOS, 2008).

#### 4.7.2 Rendimento do acetato de isoamila nas aguardentes de bananas produzidas

Constatou-se que as aguardentes produzidas com mosto de banana com casca e *Pichia* sp. (AB-1, AB-8 e AB-10) tiveram os maiores rendimentos de acetato de isoamila. (TABELA 17). O gênero *Pichia* é conhecido como produtor de aromas.

As menores produções de acetato de isoamila na aguardente de banana foi obtida a partir da fermentação do mosto de banana sem casca com CA-11 (1,7 %) e *S. cerevisiae* (1,5 %).

O rendimento em acetato de isoamila da aguardente de banana com casca (*Pichia* sp.) foi de 794,3 % em relação as sete leveduras utilizadas.

As leveduras CA-11e *S. cerevisiae* mostraram baixo rendimento na produção de acetato de isoamila.

Os autores que trabalharam com aguardentes de frutas apresentaram os resultados de ésteres em acetato de etila, sem especificar outros ésteres, devido a Instrução Normativa nº 13 (de 29 de junho de 2005), que prevê máximo de 200 mg em 100 mL álcool anidro de ésteres em acetato de etila para aguardentes. (BRASIL, 2005).

Com relação aos ésteres, que são produtos de reações químicas ocorridas entre alcoóis e ácidos carboxílicos (ROSE; HARRISON, 1970;), o valor máximo para aguardente de frutas é de 250 mg/100 mL, em acetato de etila, segundo a legislação brasileira (BRASIL, 2005). Guimarães Filho (2003) encontrou 32,84 mg/100 mL álcool anidro de ésteres em acetato de etila para aguardentes de banana.

Asquieri *et al.* (2009) avaliaram o teor de éster em acetato de etila em aguardente de jabuticaba e observaram que o produto excedeu o limite imposto pela legislação para ésteres. De acordo com os autores, o valor elevado de ésteres para aguardente de jabuticaba possivelmente foi em razão de uma falha no recolhimento do primeiro destilado (cabeça) que é constituído de altas concentrações de acetato de etila.

TABELA 17: Rendimentos do acetato de isoamila nas aguardentes de banana

AGUARDENTES PRODUZIDAS	RENDIMENTO (%)
AB-1 Aguardente de banana com casca ( <i>Pichia</i> sp.)	794,3
AB-2 Aguardente de banana sem casca (CA-11)	1,7
AB-3 Aguardente de banana somente com a casca da banana ( <i>Pichia</i> sp.)	286,6
AB-4 Aguardente de banana com casca ( <i>Pichia</i> sp.) com reaproveitamento de vinhaça (A) compondo o mosto	87,8
AB-5 Aguardente de banana com casca ( <i>Pichia</i> sp.) com reaproveitamento de vinhaça (A + CA-11) compondo o mosto	72,8
AB-6 Aguardente de banana sem casca (CA-11) com reaproveitamento de vinhaça (A) compondo o mosto	4,2
AB-7 Aguardente de banana sem casca (CA-11) com reaproveitamento de vinhaça (A + CA-11) compondo o mosto	9,1
AB-8 Aguardente de banana com casca ( <i>Pichia</i> sp.) e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração	627,8
AB-9 Aguardente de banana sem casca (CA11) e reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração	9,6
AB-10 Aguardente de banana proveniente da junção do vinho de banana com casca ( <i>Pichia</i> sp.) e banana sem casca (CA-11)	508,4
AB-11 Aguardente de banana com casca - <i>Hanseniaspora</i> sp.	127,3
AB-12 Aguardente de banana sem casca - <i>S. cerevisiae</i>	1,5
AB-13 Aguardente de banana com casca - <i>S. boulardii</i>	94,5
AB-14 Aguardente de banana com casca – <i>Candida tropicalis</i>	110,9
AB-15 Aguardente de banana com casca – <i>Kluyveromyces marcianus</i>	100,1

---

AI = Acetato de isoamila

A concentração de ésteres em acetato de etila da aguardente de manga e banana foi inferior ao limite imposto pela legislação vigente. Maia *et al.* (1995) destacaram que a maior parte da concentração de ésteres encontrada em fermentações alcoólicas ocorre por meio do metabolismo intracelular, via reação entre a acetil- CoA e o etanol e demais alcoóis. Uma parte menor acha-se associada à etapa de maturação e envelhecimento da aguardente, geralmente com duração insuficiente para permitir reações de esterificação em níveis apreciáveis.

LARA (2007) observou que a concentração de acetato de etila para a aguardente de banana produzida não foi alta ( $20,5 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$  de álcool anidro), analisadas por GCFID. Maia *et al.* (1995) destacaram que a maior parte da concentração de ésteres encontrada em fermentações alcoólicas ocorre no meio do metabolismo intracelular, via reação entre a acetil – CoA e o etanol e demais alcoóis. Uma parte menor acha-se associada à etapa de maturação e envelhecimento da aguardente, geralmente com duração insuficiente para permitir reações de esterificação em níveis apreciáveis.

O valor encontrado para o destilado de cajarana, é de  $164,3 \text{ mg}/100 \text{ mL}$ , este se encontra abaixo do valor máximo permitido pela legislação, valores maiores foram encontrados para aguardente de jabuticaba (ASQUIERI; SILVA; CÂNDIDA, 2009), que foi de  $357 \text{ mg}/100 \text{ mL}$  e pelas análises para aguardentes e cachaças de cana-de-açúcar, em estudo realizados por Miranda *et al.* (2007), que foi de  $46,23 \text{ mg}/100 \text{ mL}$ .

#### 4.8 COMPARAÇÃO DA AGUARDENTE DE BANANA PRODUZIDA COM AS BEBIDAS ALCOÓLICAS DE BANANA COMERCIAIS

A aguardente de banana produzida escolhida, para ser comparada com as comerciais, foi a aguardente produzida utilizando o mosto de banana com casca. Para a fermentação do mosto foi utilizada a levedura isolada e identificada *Pichia* sp.. Esta aguardente apresentou maior concentração de acetato de isoamila em comparação com as demais. O rendimento em etanol desta aguardente foi de 47,4%.

Os resultados das análises dos voláteis (aromas) das 8 bebidas alcoólicas de banana adquiridas no comércio encontram-se na TABELA 18, bem como a graduação alcoólica de cada uma das aguardentes em °GL. Destacam-se em amarelo os compostos característicos do aroma de banana.

**TABELA 18: Comparação dos compostos voláteis identificados no *headspace* da aguardente de banana produzida AB-1 em relação às bebidas alcoólicas adquiridas no comércio. Concentrações em mg/L.**

Compostos Voláteis	AB-1	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
°GL	36	40	40	38	36	39	38	42	45
<b>metanol</b>	nd	nd	nd	0,2	0,3	0,3	0,7	0,4	nd
<b>acetaldeído – etanal</b>	1,0	nd	nd	nd	0,3	0,4	0,7	0,4	nd
<b>etanol</b>	413,9	623,7	624,9	504,5	412,0	560,5	517,1	719,5	832,5
<b>2,3-butanodiona</b>	nd	nd	nd	2,0	1,9	nd	nd	nd	nd
<b>acetato de etila</b>	98,2	nd	0,6	0,9	3,7	1,4	5,4	3,4	34,9
<b>ácido acético</b>	nd	nd	0,4	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<b>2 – pentanona</b>	2,8	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<b>3-metil-1-butanol</b>	8,2	nd	0,3	0,7	1,2	0,6	1,2	1,6	3,4
<b>acetato de isobutila</b>	2,2	nd	nd	nd	0,8	0,2	nd	nd	nd
<b>2-hexanol</b>	0,7	nd	nd	nd	nd	nd	0,4	nd	nd
<b>não identificado</b>	0,8	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,8
<b>1-hexanol</b>	nd	nd	0,4	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<b>acetato de isoamila</b>	13,5	2,6	0,2	1,3	0,3	0,3	0,7	5,9	4,1
<b>hexanoato de etila</b>	0,8	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<b>R-(+)-Limoneno</b>	nd	nd	nd	0,4	nd	nd	nd	nd	nd
<b>não identificado</b>	0,5	nd	nd	0,3	0,2	nd	0,3	1,5	0,5
<b>octanoato de etila</b>	2,7	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	2,0
<b>ácido caprílico</b>	0,3	nd	nd	0,2	0,3	0,2	nd	nd	6,0
<b>decanoato de etila</b>	0,6	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

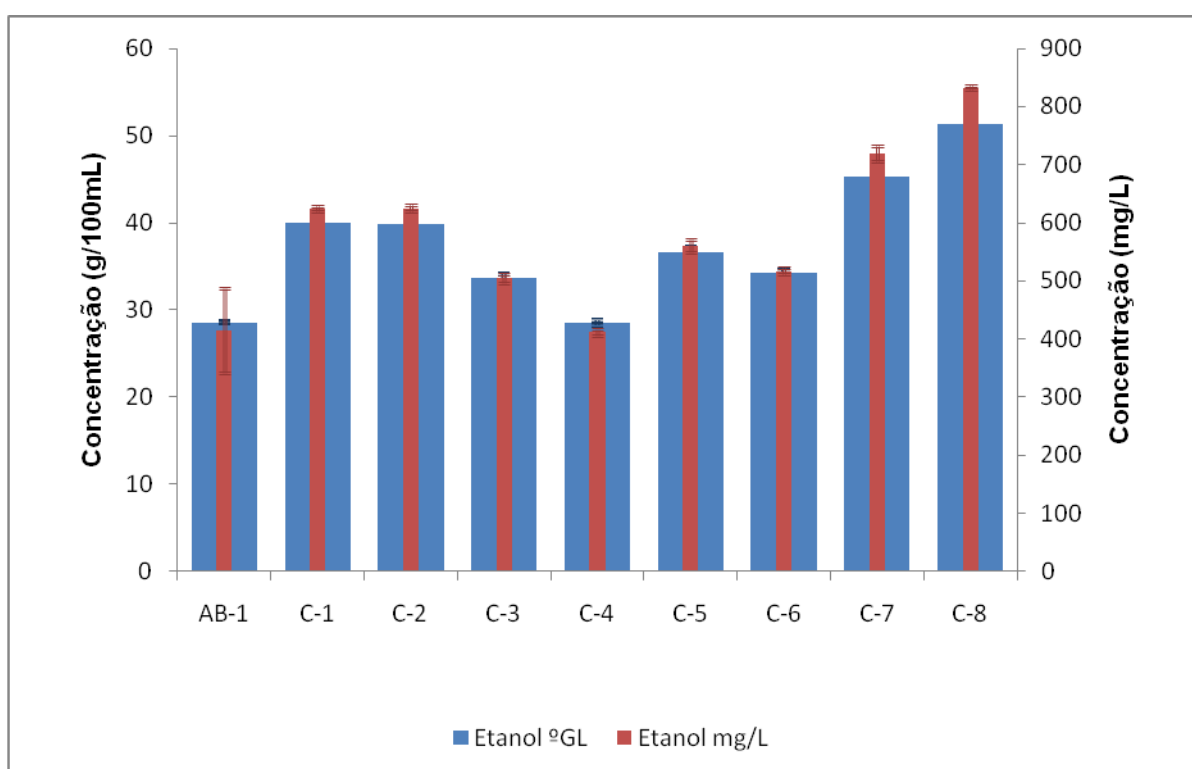
nd = não detectado

Em relação ao perfil de compostos de aroma, observou-se que a aguardente de banana produzida, AB-1, apresentou seis compostos voláteis característicos do aroma de banana, em relação às demais bebidas comerciais: - 2-pentanona, 2,8 mg/L - 3-metil-1-pentanol (álcool isoamílico), 8,2 mg/L - acetato de isobutila, 2,2

mg/L - acetato de isoamila, 13,5 mg/L - hexanoato de etila, 0,8 mg/L - octanoato de etila, 2,7 mg/L.

Isso mostra que provavelmente as cachaças comerciais foram produzidas a partir da cana e/ou composta com banana e aromatizadas.

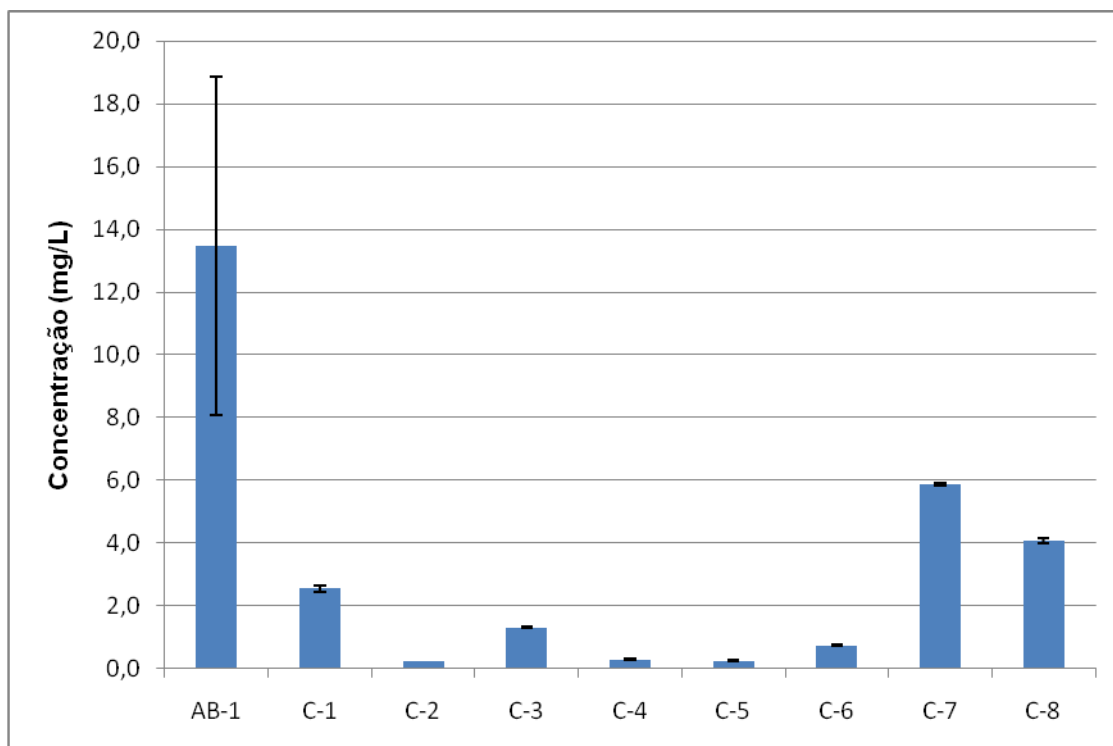
A aguardente de banana AB-1 apresentou teor alcoólico de 36° GL (413,9 mg/L ) e as comerciais entre 36° GL a 45° GL. Uma comparação entre o teor alcoólico em °GL (g/100mL) e a concentração de etanol no *headspace* (mg/L) das aguardentes foi realizada conforme GRÁFICO 14.



**GRÁFICO 14:** Comparação do teor alcoólico em °GL (g/100mL) e a concentração de etanol (mg/L) detectada no *headspace* da aguardente de banana AB-1 e bebidas comerciais.

Destaca-se o acetato de isoamila, com 13,5 mg/L (GRÁFICO 15), produzido pela levedura *Pichia* sp., conferindo a aguardente de banana o aroma característico. A bebida alcoólica comercial C7, com 5,9 mg/L de *headspace*, foi a que apresentou, entre as comerciais, o maior teor de acetato de isoamila.





**GRÁFICO 15:** Concentração de acetato de isoamila identificada no *headspace* das aguardentes de banana produzida em comparação com as comerciais. Concentrações em mg/L de *headspace*.

#### 4.9 ANÁLISE SENSORIAL DA AGUARDENTE DE BANANA PRODUZIDA

Para a análise sensorial foi utilizada a aguardente de banana proveniente da junção do filtrado (vinho) do mosto de banana com casca, utilizando inóculo da levedura *Pichia* sp. e, do vinho do mosto da banana sem casca com inóculo da levedura comercial CA-11, aguardente denominada de AB-10. A escolha dessa aguardente foi devido a facilidade de produção e apresentar 5,6 mg/L de acetato de isoamila (GRÁFICO 8).

Os resultados dos aromas, na TABELA 20, foram avaliados pelo teste de aceitabilidade. (DUTCOSKY, 1996). A análise sensorial foi avaliada conforme descrito no item 3.14. A convocação dos voluntários solicitava maiores de 18 anos para análise sensorial de aguardente, sem citar a origem da matéria-prima.

Foram realizadas 148 avaliações. Nessa população, 43,92% eram do gênero feminino e 56,08% do gênero masculino.

A faixa etária ficou distribuída entre 18 e 66 anos, sendo a distribuição: 25,68% (18-19 anos), 37,84% (20-29 anos), 14,19% (30-39 anos), 6,76 (40-49 anos), 12,16% (50-59 anos) e 3,38% (60-66 anos).

Os resultados das fichas avaliadas quanto aos atributos foram resumidos na tabela abaixo (TABELA 19).

**TABELA 19 Resultados dos atributos avaliados sensorialmente.**

<b>ATRIBUTOS</b>	<b>Distribuição das avaliações (%)</b>		
<b>AROMA</b>	fraco	moderado	forte
	1,35	37,84	60,81
<b>INTENSIDADE DO AROMA</b>	pouco intenso	intenso	muito intenso
	7,43	33,78	58,78
<b>SABOR</b>	desgostei	indiferente	gostei
	8,11	17,57	74,32

A tabela mostrada acima resume as porcentagens das faixas avaliadas dos atributos. 60,81% dos avaliadores consideraram o aroma forte, sendo que 98% consideraram entre moderado e forte.

O aroma é a identificação de todos os compostos voláteis presentes na amostra, representando a sensação provocada pelo olfato e paladar combinados. Nesta análise o etanol também pode ter influenciado nas avaliações. A concentração do acetato de isoamila nas amostras foi de 5,6 mg/L de *headspace* e o grau alcoólico de 36° GL. Considerando que os avaliadores não eram treinados para identificar os compostos, quanto ao aroma, as concentrações presentes foram suficientes para que 85,13 % dos provadores identificassem o aroma de banana.

Quanto à intensidade do aroma, 58,78% avaliaram como muito intenso e 92,57% classificaram a amostra entre intenso e muito intenso. A graduação alcoólica de 36° GL possibilitou aos avaliadores sentir com bastante intensidade o aroma. Segundo a legislação vigente (Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, no art. 57), a aguardente pode ter graduação entre 36 e 54° GL, portanto, a aguardente produzida encontra-se na faixa estabelecida. (BRASIL, 2009).

O sabor é o atributo sensorial percebido pelo paladar. O sabor da aguardente avaliada agradou a 74,32% dos provadores (os quais avaliaram como gostei) e o sabor foi rejeitado por 8,11% (avaliado como desgostei) e 17,57% foram indiferentes, ou seja, foram neutros nesta avaliação.

Na pergunta “AROMA DE QUÊ?”, a pergunta era de livre escolha. Os resultados das respostas constam na TABELA 20.

**TABELA 20: Identificação dos aromas na avaliação sensorial**

AROMA DE BANANA	%
Banana (somente)	79,05
AROMA DE BANANA+OUTROS	
Banana caramelizada	2,03
Bala de banana	0,68
Banana assada	0,68
Bolacha de banana	0,68
Banana com canela	0,68
Banana com morango	0,68
Banana com amêndoa	0,68
TOTAL	6,08
OUTROS AROMAS	
Baunilha	0,68
Champagne	1,35
Frutal	0,68
Remédio	0,68
Álcool	2,70
Barra de cereal	1,35
Arroz	1,35
Maçã	0,68
Cana	0,68
Gim	0,68
Doce	1,35
Frutas cítricas	0,68
TOTAL	12,84
NÃO IDENTIFICARAM	
TOTAL	2,03

De acordo com os resultados resumidos na TABELA 20, 85,14% dos avaliadores identificaram o aroma de banana. Dentre eles, 6,08% identificaram o aroma de banana juntamente com outro aroma ou característica.

Do total de avaliações, apenas 2,03% não identificaram nenhum aroma, respondendo “não sei”.

É importante ressaltar que não foi citada em nenhuma etapa da análise sensorial a origem da matéria prima da aguardente produzida. 12,84% dos avaliadores identificaram compostos diferentes de banana, tais como; baunilha, champagne, frutal, remédio, álcool, barra de cereal, arroz, maçã, cana, gim, doce e frutas cítricas.

O teste de aceitabilidade teve o seguinte resultado: volume distribuído no total de 740 mL, volume rejeitado de 19 mL e volume consumido de 721 mL.

O índice de aceitabilidade (IA) para a aguardente de banana produzida foi de 97,43%.

## 5 CONCLUSÕES

O mosto de banana *in natura* é propício para produção aguardente característico, resultando numa bebida com aroma característico da fruta, desde que se utilize para fermentação, a levedura adequada. Esta tese desenvolveu um bioprocessos para a produção de aguardentes de banana com a utilização de diversas leveduras: *Pichia* sp. e *Hanseniaspora* sp. (leveduras isoladas e identificadas); *S. cerevisiae*, *S. boulardii*, *Candida tropicalis*, *K. marxianus* (do Banco de Leveduras do Laboratório de Biotecnologia do Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da UFPR) e a cepa comercial CA-11, levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Na produção da aguardente a partir da banana com casca, os resultados demonstraram que se deve utilizar as leveduras *Pichia* sp., *Hanseniaspora* sp., *S. boulardii*, *Candida tropicalis*, *K. marxianus*. A utilização de mosto de banana sem a casca deve-se optar pelas leveduras *S. cerevisiae* e a cepa comercial CA-11.

A *Pichia* sp. mostrou ser a melhor levedura produtora de acetato de isoamila entre as sete leveduras utilizadas, na produção das aguardentes de banana.

A vinhaça reaproveitada para a diluição do mosto facilita a destilação sem filtração, diminuindo a viscosidade do mosto.

A aguardente de banana produzida pela junção dos filtrados compostos do mosto de banana com casca fermentado com *Pichia* sp. e do mosto de banana sem casca fermentado por *Saccharomyces cerevisiae*/comercial CA-11 foi a que melhor teve rendimento de produção.

Os compostos voláteis que compõem o aroma de banana nas aguardentes estudadas foram: acetato de etila (etéreo frutado doce, erva, herbáceo), 2-pentanona (frutado doce, amadeirado, etéreo, vinho de banana), 3-metil-1-butanol (alcoólico, uísque de banana, frutado), acetato de isobutila (doce de banana. frutado etéreo tropical), acetato de isoamila (frutado doce de banana), hexanoato de etila (doce frutado, abacaxi, banana verde), octanoato de etila (vinho frutado doce, de damasco, de banana), decanoato de etila (doce, frutado de maçã, *brandy* de uva).

É importante que na produção da aguardente de banana se tenha uma tecnologia estudada e desenvolvida de maneira a obter um produto de qualidade,

com características agradáveis da fruta e dentro dos padrões estabelecidos na legislação vigente.

## 6 SUGESTÕES PARA CONTINUIDADE DA PESQUISA

- Testar outros tipos de frutas com os mesmos microrganismos para produção de aguardente, provavelmente com a produção de outros aromas e sabores diferentes
- Devido à boa aceitabilidade da aguardente, testar novas formulações para suavizar a intensidade considerada forte.
- Conduzir experimentos com reaproveitamento da biomassa residual das filtrações para novas inoculações.
- Estudos sobre a *Hanseniaspora* sp em fermentação a 20°C, pois em baixa temperatura, esta levedura produziu quantidades expressivas de acetato de isoamila.
- Produzir licores e outros derivados para reaproveitar todo o etanol produzido, ainda contido na cauda.
- Formular uma aguardente de banana com a adição de açúcar (legislação até 6%).
- Realizar estudos com o filtrado do mosto fermentado para a produção de vinho e cerveja de banana.
- Estudar o comportamento de fermentações em mosto de banana com inoculações concomitantes das leveduras *Pichia* e Comercial CA-11.

## REFERÊNCIAS

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12.806**: Análise Sensorial dos Alimentos e Bebidas. Terminologia. São Paulo: ABNT, 8 p., 1993.

AGEITEC. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. **Cana-de-açúcar**. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONT000fiog1ob502wyiv80z4s473agi63ul.html>>. Acesso em: 14/03/2014.

ALAMBIQUE DE FEMEL. Disponível em: <[http://www.unividros.com/alambique\\_femel.php](http://www.unividros.com/alambique_femel.php)>. Acesso em: 09/06/2014.

ALENCAR, E. M. B.; SOUZA-MOTTA, C. M. S.; WALTER, B. S.; SANTOS R. M. P.; MARQUES, O.; QUEIROZ, L. A.; Fermentation capacity of *Saccharomyces cerevisiae* cultures. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 52, n. 4, jul. p.819-824, 2009.

ALMEIDA, C. de A. *In*: SEBRAE. Estudo de Mercado SEBRAE/ESPM – 2008. **Banana**. Relatório Completo. Disponível em: [http://201.2.114.147/bds/bds.nsf/8E2336FF6093AD96832574DC0045023C/\\$File/NT0003904A.pdf](http://201.2.114.147/bds/bds.nsf/8E2336FF6093AD96832574DC0045023C/$File/NT0003904A.pdf). Acesso em: 30/08/2014.

ALMEIDA, J. R. de. Fabricação de álcool e da pinga de bananas. **Revista de Agricultura**, Piracicaba-SP, v. 10, n. 3/5, p. 125-148, mar./maio 1935.

ALMEIDA, T. C. A.; FOLEGATTI, M. I. S.; FREIRE, M. T. A.; MADEIRA, M. S.; SILVA, F. T.; SILVA, M. A. A. P. Determinação do perfil sensorial e parâmetros de qualidade de figos em calda produzidos pela indústria brasileira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 2, maio-ago. 1999.

ALVARENGA, L. M. **Efeito do tratamento enzimático da polpa na produção de aguardente de manga**. Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos. 2006. Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 79p.

ALVARENGA, L. M.; ALVARENGA, R. M.; DUTRA, M. B. L.; OLIVEIRA, E. S. Avaliação de aguardente de banana e manga. **Alim. Nutr. Braz. J. Food Nutr.**, Araraquara, v.24, n.2, p. 195-201, abr./jun. 2013. ISSN 0103-4235. ISSN 2179-4448 *on line*.

ALVARENGA, R. M. **Avaliação de parâmetros da fermentação e da destilação para adequação dos teores de compostos secundários em aguardente de banana**. 2011, 157f. Tese (doutorado). Faculdade de Farmácia da UFMG. Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia. Belo Horizonte, MG.

ALVES, E. J. (Ed.). **A cultura da banana**: Aspectos Técnicos, Socioeconômicos e Agroindustriais, 2. ed. Brasília: EMBRAPA – SP, 1999. cap.19, p.545-581.



- ALVES, H. de O. **Obtenção e análise físico-química do destilado alcoólico da cajarana (*Spondias sp*), no semiárido paraibano**. Dissertação. 2011. 73 p. Mestrado em Ciências Florestais. Universidade Federal de Campina Grande. Patos-PB.
- ANFANG, N ; BRAJKOVICH, M ; GODDARD, MR. Co-fermentation with *Pichia* sp. increases varietal thiol concentration in Sauvignon Blanc. **Australian Journal of Grape and Wine Research**. v. 15, n. 1, p. 1-8, 2009.
- ARMSTRONG, D. W.; BROWN, L. A. Aliphatic, aromatic, and lactone compounds. *In: Bioprocess Production of Flavor, Fragrance, and Color Ingredients*. New York. p. 323-342. 1994.
- ASQUIERI, E. R.; SILVA, A. G. M.; CÂNDIDO, M. A. Aguardente de jabuticaba obtida da casca e borra da fabricação de fermentado de jabuticaba. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 4, p. 896-904, 2009.
- ASTM. American Society for Testing and Materials. **ASTM 433**: Basic principles of sensory evaluation. Baltimore, 1969.
- AUSTIN, T. **Two fifteenth-century cookery books**. Oxford: Oxford University Press, 1964.
- BASTOS, D. H. M.; DA SILVA, M. A. A. P.; FRANCO, M. R. B. Otimização da etapa de isolamento dos compostos voláteis de mel para análise por cromatografia gasosa. **Alim. Nutr.**, São Paulo, 9: 77-88, 1998.
- BASTOS, D. H. M.; FRANCO, M. R. B.; DA SILVA, M. A. A. P.; JANZANTTI, N. S.; MARQUES, M. O. M. Composição de voláteis e perfil de aroma e sabor de méis de eucalipto e laranja. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, Campinas, SP. v. 22 n. 2, p. 122-129, maio-ago. 2002.
- BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food chemistry**. 4th ed. Chapter 5. Berlin: Springer-Verlag, 2009.
- BELLEMAIN, E. ; CARLSEN, T. ; BROCHMANN, C. ; COISSAC, E. ; TABERLET, P.; KAUSERUD, H. ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases. **BMC Microbiol**. v. 10, p. 189, 2010. doi: 10.1186/1471-2180-10-189.
- BERGER, R. C. Fruits. *In: MAARSE, H. (Ed.). Volatile compounds in foods and beverages*. New York: Marcel Dekker Inc., 1991. p. 283–304.
- BERGER, R. C. Biotechnology of flavours the next generation. **Biotechnology Letters**, v. 31, n. 11, p. 1651-1659, 2009.
- BIZELLI, L. C.; RIBEIRO, C. A. F.; NOVAES, F. V. Dupla destilação da aguardente de cana: teores de acidez total e de cobre. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 4, p. 623-627, 2000.

BLACK, J. G. **Microbiologia Fundamentos e Perspectivas**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F.O. **Química do processamento de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001.

BOSCOLO, M.; BEZERRA, C. W. B.; CARDOSO, D. R.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Identificação and dosage by HRGC of minor alcohols and ésteres. *In: Brazilian sugan-cane spirit. Journal of the Brazilian Chemical Society*, São Paulo, v. 11, n. 1, p. 86-90, jan./feb. 2000.

BOSSI, G. **Teoria e prática da degustação dos vinhos**. Rio de Janeiro: Espaço e Tempo, 1996. 181 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Sindicato Nacional de Indústria de Alimentação Animal. Associação Nacional dos Fabricantes de Rações. **Compêndio brasileiro de alimentação animal**. São Paulo: ANFAR/CBNA/SDR, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 6.871**, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Portaria n. 371**, de 09 de setembro de 1974. Aprova a complementação dos padrões de Identidade e Qualidade para bebidas, vinagres e demais produtos referidos no Decreto 73.267 de 06 de dezembro de 1973, conforme as especificações anexas. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 20/01/2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa n. 13** de 29 de junho de 2005. Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 30 jun. 2005. Seção 1, p.3.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Portaria n. 76**, de 26 de novembro de 1986. Dispõe sobre os métodos analíticos de bebidas e vinagres. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 28 nov. 1986. Seção 1, pt2. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 24/03/2014.

CALDAS, C.; BORÉM, A.; SANTOS, F. **Cana-de-açúcar, Bioenergia, Açúcar e Álcool** – tecnologia e perspectivas. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2012. 637p.

CAMPOS, C. R. **Uso de cepas selecionadas de *Saccharomyces cerevisiae* na produção de cachaça**. 2003. 105 p. Tese (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CAMPOS, L. M. A. S. de. **Estudo dos parâmetros fermentativos na obtenção de aguardente de mel**. Tese. 2011. 167 p. Doutorado em Biotecnologia Industrial. Escola de Engenharia de Lorena/USP.

CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise descritiva quantitativa da aguardente de cana durante o envelhecimento em tonel de carvalho (*Quercus alba* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 2. maio/jul. 1998.

CARDOSO, M. das G. **Produção de aguardente de cana**. 2. ed. Lavras-MG: UFLA, 2006.

CASSINI, C. E. B. **Produção de aguardente de cana de açúcar por células imobilizadas**. 2004. 143f. Tese (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

CHIAPPINI, C. C. de J. 2007. **Aromas naturais produzidos por microrganismos**. Disponível em: <http://www.comciencia.br/comciencia/?section=8&edicao=28&id=325>. Acesso em: 15/01/2014.

CIÊNCIA DE AGRICULTOR. **Grau de maturação da banana**. Disponível em: [http://cienciadeagricultor.blogspot.com.br/2013\\_08\\_01\\_archive.html](http://cienciadeagricultor.blogspot.com.br/2013_08_01_archive.html). Acesso em: 09/06/2014.

CLASSEN, C. ; HOWES, D. ; SYNNOTT, A. **Aroma**: a história cultural dos odores. Tradução Álvaro Cabral. Rio de Janeiro: Jorge Zahar, 1996.

CLETON, F. V. G., MUTTON, M. J. R. Rendimento e Composição das aguardentes de cana, laranja e uva com utilização de lecitina no processo fermentativo. **Ciênc. agrotec.**, Lavras-MG, v. 28, n. 3, p. 577-584, maio/jun., 2004.

CRISPIM, J. *et al.* **Manual da produção de aguardente de qualidade**. Guaíba: Agropecuária. 2000. 333 p.

CUNHA, J. F. **Cultura da bananeira**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1948.

DUARTE, W.; DRAGONE, G.; DIAS, D.; OLIVEIRA, J.; TEIXEIRA, J.; ALMEIDA SILVA, J.; SCHWAN, R.; Fermentative behavior of *Saccharomyces* strains during microvinification of raspberry juice (*Rubus idaeus* L.), **International Journal of Food Microbiology**, n.143, v.3, p. 173-182, ago.2010.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996.

DUXBURY, D. Flavor analysis integral to product development. **Food Technology**, v. 59, n. 2, 60-62, 2005.

EMBRAPA. 1997. **Mercado e Comercialização**. Comercialização no mercado interno. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/mercado.htm>. Acesso em: 20/01/2014.

EMBRAPA. 1999. **Mercado e Comercialização**. Comercialização no mercado interno. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/mercado.htm>. Acesso em: 20/01/2014.

EMBRAPA. 2000. **Mercado e Comercialização**. Comercialização no mercado interno. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/mercado.htm>. Acesso em: 20/01/2014.

EMBRAPA. 2005. **Mercado e Comercialização**. Comercialização no mercado interno e externo. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/mercado.htm>. Acesso em: 20/01/2014.

EMBRAPA. 2007. **Mercado e Comercialização**. Comercialização no mercado interno. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/mercado.htm>. Acesso em: 13/02/2014.

EMBRAPA. 2009. **Mercado e Comercialização**. Comercialização no mercado interno. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaRondonia/mercado.htm>. Acesso em: 13/02/2014.

EMBRAPA. 2014. **Mercado e Comercialização**. Comercialização no mercado interno. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaRondonia/mercado.htm>. Acesso em: 18/03/2014.

ESPINOZA, L. J. S. **Tecnologia de Produção de cachaça**. Lavras - MG: UFLA-MG. 2006.

ESTANISLAU, M. L. L. ; CANÇADO JÚNIOR, F.L. ; PAIVA, B. M. de. Mercado atual e potencial da cachaça. **Revista Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 19-24, set./out., 2002.

EVAPORADOR ROTATIVO. Propriedades. Disponível em: <[http://www.fisatom.com.br/evaporadores\\_rotativos.html](http://www.fisatom.com.br/evaporadores_rotativos.html)>. Acesso em: 09/06/2014.

FACUNDO, H.V. de V. ; GARRUTI, D. dos S. ; DIAS, C.T. dos S. ; CORDENUNSI, B.R. ; LAJOLO, F.M. Influence of different banana cultivars on volatile compounds during ripening in cold storage. **Food Research International**. v. 49, p. 626-633, dez. 2012.

FAO. FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. 2008. Disponível em: <<http://apps.fao.org/page/collections>>. Acesso em: 10 fev. de 2014.

FAOSTAT - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Statistics Division, 2011. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/home/index.html#>. Acesso em: 09/06/2014.

FARIA, J. B. *et al.* Cachaça, Pisco e Tequila. *In*: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. (Eds.). **Fermented beverage production**. 2. ed. New York: Klumer Academic / Plenum Publishers, 2003. cap. 15, p. 335-363.

FAZENDA FRUTICULTURA BANANAL – **Bananicultura**. Disponível em: <[http://galeria.ufsc.br/fazenda/2012/20121121+Fazenda+Fruticultura+Bananal+Bananicultura.jpg.html?g2\\_imageViewsIndex=1&g2\\_GALLERYSID=8db2cce7b8e91bc78fc65943d1e3e025](http://galeria.ufsc.br/fazenda/2012/20121121+Fazenda+Fruticultura+Bananal+Bananicultura.jpg.html?g2_imageViewsIndex=1&g2_GALLERYSID=8db2cce7b8e91bc78fc65943d1e3e025)>. Acesso em: 09/06/2014.

FERREIRA, V. L. P. (Coord.) **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2000.127 p.

FLEET, G. H. Yeast interactions and wine flavour. **International Journal of Food Microbiology**, v.86, p. 11 e 22, 2003.

FLEET, G. H.; HEARD, G. M. Yeasts-growth during fermentation. In: FLEET, G. H. (Ed.). **Wine microbiology and biotechnology**. Chur, Switzerland: Harwood Academic Publishers, 1993, p. 27-55.

FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S. Avanços na metodologia instrumental da pesquisa do sabor. In: FRANCO, M. R. B. **Aroma e sabor de alimentos: temas atuais**. São Paulo: Livraria Varela, 2003. p. 17-28.

FRANCO, M. R. B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. Trapping of soursop (*Annona muricata*) juice volatiles on Porapak Q by suction. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 34, n. 3, p. 293-299, 1983.

FROOTZEN™ - the first *Pichia* sp. yeast for winemakers. Disponível em: <http://www.chr-hansen.com/products/product-areas/wine-ingredients/viniflorar-specialty-yeasts-to-get-closer-to-wild-ferment-complexity-without-the-risk/specialty-yeast-pichia-sp.-frootzen.html>. Acesso em: 09/03/2013.

FUGELSANG, K.; EDWARDS, C. **Wine microbiology, practical applications and procedures**, v. 2. New York: Springer Science+Business Media/LLC, 2007.

GARCÍA-LLOBODANIN, L.; ACHAERANDIO, I. FERRANDO, M.; GÜELL, C.; LÓPEZ, F. Pear distillates from pear juice concentrate: effect of lees in the aromatic composition. **J. Agric. Food. Chem.** v. 55, p.3462–3468, 2007.

GARRUTI, D. S. **Composição de voláteis e qualidade de aroma do vinho de caju**. Campinas, 2001. 218 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas.

GARRUTI, D. S. Identificação de Compostos Voláteis Importantes ao Aroma de Suco de Frutas Tropicais por CG-EM e CG-Olfatometria. In: FRANCO, M. R. B. **Aroma e sabor de alimentos: temas atuais**. São Paulo: Livraria Varela, 2003. p. 101-112.

GATFIELD, I. L. Enzymatic and microbial generation of flavor. **Perfumer & Flavorist**, v. 20, p. 5-14, 1995.

GODOY, R. C. B. de. **Estudo das variáveis de processo em doce banana de corte elaborado com variedade resistente à sigatoka-negra**. 2010. 252f. Tese (doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Curitiba-PR.

GOÉS, F. J. de; ZANGIROLAMI, T. C. Optimization of the Fermentation Conditions for Wine Produced from the “Italia” Grape Variety. In: 2 nd Mercosur Congress on

Chemical Engineering, 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering, 2005, Rio de Janeiro. **Anais...** p. 20, 2005.

GOMES, W.O. Perfil da Cachaça. Biblioteca Digital do SEBRAE – BDS. Disponível em:  
[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/ESTUDO\\_SEBRAE\\_cachaca\\_000fjd7aiji02wyiv809gkz514kr8pf2.pdf](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/ESTUDO_SEBRAE_cachaca_000fjd7aiji02wyiv809gkz514kr8pf2.pdf) . Acesso em: 14/03/2014.

GONÇALVES FILHO, L. C. **Utilização do pseudocaule de bananeira como substrato da fermentação alcoólica:** avaliação de diferentes processos de despolimerização. 2011. 98f. Dissertação (Mestrado) – Universidade da Região de Joinville – Univille. Pós Graduação em Engenharia de Processos. Joinville-SC.

GONZÁLEZ, E.A.; AGRASAR, A.T.; CASTRO, L.M.P.; FERNÁNDEZ, I.O.; GUERRA, N.P. Solid-state fermentation of red raspberry (*Rubus ideaus* L.) and arbutus berry (*Arbutus unedo*, L.) and characterization of their distillates. **Food Res. Int.** v. 44, p. 1419–1426, 2011.

GRIGSON, J. **Fruit book**. New York: Atheneum, 1999.

GRIZOTTO, R. K.; MENEZES, H. C. Avaliação da aceitação de chips de mandioca. **Ciencia e Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 79-86, dez. 2003.

GUIMARÃES FILHO, O. **Avaliação da produção artesanal da aguardente de banana** utilizando *Saccharomyces cerevisiae* CA-1174. Tese de Doutorado, 2003. Lavras-MG. 82 p.

GUIMARÃES, R. A. **Produção de aguardente utilizando o Sorgo Sacarino (*Sorghum Bicolor* (L.) Moench).** 2013. 103 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas. Ouro Preto-MG.

GUYMON, J.F. Higher alcohols in beverage brandy. **Wines**, v.53, n.1, p.37-40, 1972.

HAMMOND, J. B.; EGG, R.; DIGGINS, D.; COBLE, G. C. Alcohol from bananas. **Bioresource Technology**. Oxford, v. 56, n. 1, p. 125-30, Apr. 1996.

HANG, Y. D.; WOODAMS, E. E. Methanol content of grappa made from New York grape pomace, **Bioresource Technology**, v. 99, p. 3923–3925, 2008.

HARJU, S. ; FEDOSYUK, H. ; PETERSON, K.R. Rapid isolation of yeast genomic DNA: Bust n' Grab. **BMC Biotechnol.** v. 4, p. 8, 2004. doi: 0.1186/1472 - 6750-4-8.

HERNÁNDEZ-GÓMEZ, L. F.; ÚBEDA-IRANZO, J.; GRACÍA-ROMERO, E.; BRIONES-PÉREZ, A. Comparative production of different melon distillates: chemical and sensory analyses. **Food Chemistry**, v. 90, p. 115-125, 2005.

IBGE. Levantamento sistemático da produção agrícola. **Levant. Sistem. Prod. Agríc.** Rio de Janeiro, v.29, n.9 p.1-69, ago. 2012.

IBGE. Levantamento sistemático da produção agrícola. **Levant. Sistem. Prod. Agríc.** Rio de Janeiro, v.26, n.8 p.1-84, ago. 2013.

IBGE. Levantamento sistemático da produção agrícola. Rio de Janeiro, 2004. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br> . Acesso em: 24/05/2014.

IBGE. Produção agrícola mensal (PAM). Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 15/05/2014.

IBRAF - Instituto Brasileiro de Frutas. Disponível em: [www.ibraf.org.br](http://www.ibraf.org.br) . Acesso em: 20/01/2014.

JANSSENS, L.; DePOOTER, H. L.; SCHAMP, N. M.; VANDAMME, E. J. Production of flavours by microorganisms. **Process in Biochemistry**, v. 27, 195-215, 1992.

JANZANTTI, N. S. **Compostos voláteis e qualidade de sabor de cachaça.** Campinas-SP. 2004. 123 p. Tese. Doutorado em Ciência de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas.

JENNINGS, W. G. ; RAPP, A. **Sample Preparation for Gas Chromatographic Analysis.** New York WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 1983.

JIANG, Y.; SONG, J. Fruits and fruit flavor: Classification and biological characterization. *In*: HUI, Y.H. (Ed.). **Handbook of fruit and vegetable flavours.** New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2010. p. 3–24.

JONAS, R. P.; PAMMENT, N.; GREENFIELD, D. P. F. Alcohol fermentation by yeasts the effect of environmental and other variable. **Proc. Biochemistry**, p 42-49, 1981.

JORDÁN, M. J.; TANDON, K.; SHAW, P. E.; GOODNER, K. L. Aromatic profile of aqueous banana essence and banana fruit by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and gas chromatography-olfactometry (GC-O). **Journal of Agriculture Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 10, p. 4813-4817, Oct. 2001.

KOTOWSKA, M. ; ALBRECHT, P. ; SZAJEWSKA, H. Saccharomyces boulardii in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children: a randomized double-blind placebo-controlled trial. **Aliment. Pharmacol.** v. 21, n. 5, p. 583–90, 2005.

LANE, M. M. ; MORRISSEY, J. P. *Kluyveromyces marxianus*: A yeast emerging from its sister's shadow. **Fungal Biology Reviews.** v. 24, n. 1-2, p. 17-26, fev./may. 2010.

LARA, C. A. **Produção de aguardente de banana:** emprego de enzimas pectinolíticas e efeito de fontes de nitrogênio e quantidade de inóculo na formação de alcoóis superiores. Dissertação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Minas Gerais, 2007. 74 p.

LATRASSE, A.; DEGORCCE-DUMAS, J. R.; LEVEAU, J. Y. Production d'arômes par les microorganismes. **Sciences des Aliments**, v. 5, p. 1-26, 1985.

LÉAUTÉ, U. A. Distillation in alambic. **Am. J. Enol. Vitic.** V.41, n.1, p.90-103, 1990.

LILLY, M.; LAMBRECHTS, M. G.; PRETORIUS, I. S. Effect of increased yeast alcohol acetyltransferase activity on flavor profiles of wine and distillate. University of Stellenbosch, ZA-7600 Stellenbosch, South Africa. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 2, p. 744-753, feb. 2000.

LIMA, L. L. de A.; MELO FILHO, A. B. **Tecnologia de bebidas**. Recife: EDUFPE, 2011. 126 p. ISBN 978-85-7946-089-0.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIN, H. V. Produção de etanol. In: LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDEL, W. **Biotecnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos**. v. 3. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. p.1-43.

LINDSAY, R. C. Flavors. In: FENEMA, O.W. (Ed.). **Food chemistry**. New York: Marcel Dekker Inc., 1996. p. 723–765.

LNF. **Cachaça Brasileira**: O orgulho nacional, agora ainda melhor. Disponível em: < <http://www.ampaq.com.br/media/ca11.pdf> >. Acesso em: 12/03/2014.

LOURENS-HATTINGH, A. ; VILJOEN, B.C. Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products. **Food Research International**. v. 34, p. 791–796, 2001.

MACCARI JÚNIOR, A.; FELIPE, A. (Org.). **Bananicultura no litoral do Paraná**. Coordenação de Extensão. Programa e Projetos. Curitiba: UFPR, 2006.

MACEDO, G. A.; PASTORE, G. M. Lipases microbianas na produção de ésteres formadores de aroma. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 2, p.115-119, maio - ago., 1997.

MAIA, A. B. R. A.; CAMPELO, E. A. P. Tecnologia da cachaça de alambique. Belo Horizonte: Sindbebidas, 2006.

MAIA, A. B. R. A.; RIBEIRO, J. C. G. M.; SILVEIRA, L. C. I Curso Associação Mineira de produtores de Cachaça de Qualidade – Produto Artesanal de cachaça de qualidade. Belo Horizonte: AMPAQ, 1995. 104 p.

MAIA, A.B.R. **Tecnologia da Cachaça de Alambique**. SEBRAE-MG, 2006.

MANDIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Brock Biology of Microorganisms**. 9. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2000.

MANICA, Ivo. **Bananas**: do plantio ao amadurecimento. Porto Alegre: Cinco Continentes, 1998. 98 p.

MANLEY, C. H. The development and regulation of flavor, fragrance, and color ingredients produced by biotechnology. **Process of production of flavor, fragrance and color ingredients**. Edited by Alan Gabelmam, p. 19-39, 1995.



MARQUES, D. B.; PASTORE, G. M. Produção de aromas naturais por microrganismos. **Boletim da SBCTA**, Campinas-SP, v. 33, n. 1, p. 80-85, jan.-jun. 1999.

MCGORRIN, R. G. Character impact compounds: Flavors and off-flavors in foods. *In*: MARSILI, R. (Ed.). **Flavor, fragrance and odor analysis**. New York: Marcel Dekker Inc., 2002. p. 375-413.

MEDEIROS, Adriane Bianch Pedroni. **Desenvolvimento tecnológico para produção e recuperação de bioaromas com características frutais por *Ceratocystis fimbriata* cultivado sobre resíduos sólidos da agroindústria do café**. 2003. Viii, 87p. Tese (doutorado) - Universidade Federal do Paraná.

MEDINA, J. C. Banana. *In*: INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Banana: cultura, matéria prima, processamento e aspectos econômicos**. 2.ed.rev. Campinas-SP, 1985. p.1 – 131. (ITAL. Série Frutas Tropicais, 3).

MEDINA, V. M.; SILVA, S. de O. ; CERQUEIRA, R. C. Evaluacion de lãs características de la maduración po cosecha de genotipos de banano. *In*: REUNIÓN DE LA ASOCIACIÓN PARA LA COOPERACIÓN En ENVESTIGACIONES DE BANANO EN EL CARIBE, EN EL AMERICA TROPICAL (Acorbat 98), 1998, Guayaquil, Equador. **Memorian..** Guayaquil, Equador, 1998. p.167-78.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. Boca Roton: CRC Press, 1988. 281p.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 2nd Ed. Florida - USA: CRC Press, 1991. 354 p.

MIRANDA, S. H. G.; OZAKI, V. A.; FONSECA, R. ; MORTATTI, C. M. Perspectives of the bilateral trade china-brazil: evaluation through a gravity model approach. **International Agricultural Trade Research Consortium**. Summer Meetings, Beijing, 2007.

MONTEIRO, M. A. M.; MINIM, V. P. R.; SILVA, A. F.; CHAVES, J. B. P; CARDELLO, H. M. A. B. Perfil sensorial da bebida café (*Coffea arabica* L.) determinado por análise tempo-intensidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 772-780, out.-dez. 2005.

MOREIRA, N.; MENDES, F.; GUEDES DE PINHO, P.; HOGG, T.; VASCONCELOS, I. Heavy sulphur compounds, higher alcohols and esters production profile of *Hanseniaspora uvarum* and *Hanseniaspora guilliermondii* grown as pure and mixed cultures in grape must. **International Journal of Food Microbiology**, v. 124, p. 231-238, 2008.

MOSHA, D.; WANGABO, J.; MHINZI, G. African traditional brews: how are they? **Food Chemistry**, Oxford, v. 57, p. 205-209, Oct. 1996.

MUNHOZ, C. L.; SILVA, F. C.; VIANA, L. F.; SILVA JÚNIOR, Z. P. S.; RIBEIRO, G. F. A. produção e análise de aceitação de cachaça de mexerica por teste afetivo. *In*:

CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 20, 2006, Curitiba. **Anais...** Curitiba: SBCTA, 2006. 1 CD-ROM.

MUÑOZ, A. M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation in quality control.** New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. p. 240.

MURRAY, J. M.; DELAHUNTY, C. M.; BAXTER, I. A. Descriptive sensory analysis: past, present and future. **Food Research International**, v. 34, n. 6, p. 461-471, 2001.

NELSON, N.A. A photometric adaptation of Somogyi method for determination of glucose. **Journal Biological Chemistry**, Baltimore, v.135, p. 375, 1944.

N'GUESSAN, K. F. ; BROU, K. ; JACQUES, N. ; CASAREGOLA S. ; DJE.; K. M. Identification of yeasts during alcoholic fermentation of tchapalo, a traditional sorghum beer from Côte d'Ivoire. *International Journal of General and Molecular Microbiology*. v. 99, n. 4, p. 855-864, 2011

NIKIĆEVIĆ, N.; VELIČKOVIĆ, M.; JADRANIN, M.; VUČKOVIĆ, I.; NOVAKOVIĆ, M.; VUJISIĆ, L.; STANKOVIĆ, M.; UROŠEVIĆ, I.; TEŠEVIĆ, V. The effects of the cherry variety on the chemical and sensorial characteristics of cherry brandy. **J. Serb. Chem. Soc.** v. 76, p.1219–1228, 2011.

NOGUEIRA, A. M. P.; VENTURINI FILHO, W. G. **Aguardente de Cana.** Universidade Estadual Paulista - UNESP (Faculdade de Ciências Agrônomicas-Botucatu/SP). São Paulo: Abril, 2005.

NOGUEROL-PATO R.; GONZÁLEZ-BARREIRO, CANCHO-GRANDE B.; SIMAL-GÁNDARA, J. Quantitative determination and characterisation of the main odourants of Mencía monovarietal red wines. **Food Chemistry**, n.117, p.473-484, 2009.

OKUNOWO, W. O.; OSUNTOKI, A. A. 2007. Quantitation of alcohols in orange wine fermented by four strains of yeast. **Afr. J. Biotechnol.** v., n. 6, p. 095-100, 2007.

OLIVEIRA, A. P. V.; BENASSI, M. T. Perfil livre: uma opção para análise sensorial descritiva. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 468-472, jul.-set. 2003.

OLIVEIRA, E. S. **Características fermentativas, formação de compostos voláteis e qualidade da aguardente de cana obtida por linhagens de leveduras isoladas de destilarias artesanais.** 2001. 135 p. Tese. Doutorado em Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas.

OLIVEIRA, E. S. **Utilização de enzimas em processos industriais.** Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte: UFMG, 2000.

OLIVEIRA, E. S.; ROSA, C. A.; MORGANO, M. A.; SERRA, G. E. Fermentation characteristics as criteria for selection of cachaça yeast. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 20, n. 1, p. 19-24, 2004.

OXITENO. Boletim Técnico – Acetato de Isopentila. 2007. Disponível em:<<http://www.oxiteno.com.br/aplicacoes/mercados/doc/documento.asp?produtoMarca=151041173715041514040362331D43L9944GFBEE34DC&idioma=PO&r=.pdf>> Acesso em: 30/03/2011.

PACHECO, T. F. **Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente**. Dissertação. 2010. 107 f. Mestrado em Engenharia Química. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia- MG.

PADOVANI, M. I. **Banana** – um mercado crescente para este alimento milenar. São Paulo: Ícone, 1989.

PAL, D.; SACHDEVA, S.; SINGH, S. Methods for determination of sensory quality of foods: A critical appraisal. **Journal of Food Science Technology**, v. 32, n. 5, p. 357-367, 1995.

PANDEY, A.; SOCOOL, C. R.; *et al.* **Biotechnological potential of agro-industrial residues**. II: cassava bagasse. Bioresource technology. Elsevier. Brasil, 2000.

PANDEY, A.; SOCOOL, C. R.; LARROCHE, C. Production of aroma compounds. *In*: CURRENT DEVELOPMENT. Solid-state Fermentation. India: Springer. Asiatech publishers, Inc, 2008.

PASTORE, G.M. ; UENOJO, M. Isolamento e Seleção de Microorganismos Pectinolíticos a Partir de Resíduos Provenientes de Agroindústrias para Produção de Aromas Frutais, **Ciência e Tecnol. Aliment.**, v.26,n.3,p.509-515, 2006.

PASTORE, G.M.; COSTA, V.S.R.; KOBLITZ, M.G.B. Purificação Parcial e Caracterização Bioquímica de Lipase Extracelular Produzida por Nova Linhagem de *Rhizopus* sp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n.23, v.2, p.135-140, 2003.

PATARO, C. ; GUERRA, J. B. ; PETRILLO-PEIXOTO, M. L. ; MENDONÇA-HAGLER, L. C. LINARDI, V. R. ; ROSA, C. A. Yeast communities and genetic polymorphism of *S. cerevisiae* strains associated with artisanal fermentation in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 89, p. 24-31, 2000.

PAULINO, A. da S.; Manoel Santos da SILVA, M. S. da S.; Maria Gilvania XAVIER, M. G.; FERRO, J. H. de A.; MELO, D. de B. M. Produção artesanal de aguardente de banana com frutos em estágio avançado de maturação. *In*: IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica. **Anais...** Belém-PA, 2009.

PEDRÃO, M. R.; BELEIA, A.; MODESTA, R. C. D.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H. Estabilidade físico-química e sensorial de suco de limão Tahiti natural adoçado, congelado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 2, p. 282-286, Campinas, maio-ago., 1999.

PEREIRA JR, N.; BON, P. S., FERRARA, M. A. **Tecnologia de Bioprocessos**. Rio de Janeiro: Escola de Química /UFRJ. 2008.

PÉREZ, A. G.; CERT, A.; RIOS, J. J.; OLIAS, J. M. Free and glycosidically bound volatile compounds from two banana cultivars: Valery and Pequena Enana. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.4393–4397, 1997.

PICINELLI, A.; SUÁREZ, B.; MORENO, J.; RODRIGUES, R.; GARCÍA, C.; PANDO, R. M.; BEDRIÑANA; MANGAS, J. J. Técnicas analíticas en el control de calidad y caracterización de la sidra natura Asturiana. **Alimentaria**, p. 129-136, septiembre. 2002.

PIETROWSKI, G. de A. M.; SANTOS, C. M. E. dos; SAUER, E.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Influence of Fermentation with *Hanseniaspora* sp. Yeast on the Volatile Profile of Fermented Apple. **Agric. Food Chem.** v. 60, p. 9815–9821, 2012.

PINHEIRO, D. M.; PASTORE, G. M. Produção biotecnológica de compostos de aromas. In: FRANCO, M. R. B. **Aroma e sabor de alimentos: temas atuais**. São Paulo: Livraria Varela, 2003. p. 195-206.

PINHEIRO, S. H. M. **Perfil da qualidade da cachaça do Ceará**. Dissertação de Mestrado. Fortaleza, Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFC, 1999. 133p.

PORTAL SÃO FRANCISCO. **Bananeira** - classificação botânica. Disponível em: <http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/bananeira/bananeira-3.php>. Acesso em: 09/06/2014.

PULLAR, P. **Consuming passions: a history of English food and appetite**. Londres: Hamish Hamilton, 1970.

QUEIROZ, M. I.; TREPTOW, R. O. **Análise sensorial para a avaliação da qualidade dos alimentos**. Rio Grande: Editora da Furg, 2006. 268 p.

REDDY, L. V. A.; REDDY, O. V. S. Production and characterization of wine from mango fruit (*Mangifera indica* L.). **World J. Microb. Biot.** v. 21, p.1345–1350, 2005.

RICHARD, H.; MULTON, J. L. **Les arômes alimentaires**. Collection sciences et techniques agroalimentaires. Paris: Tec & Doc – Lavoisier, 1992.

RINDISBACHER, H. J. **The smell of books: a cultural-historical study of olfactory perception in literature**. Ann Arbor/Michigan: University of Michigan Press, 1992.

RIZZON, L. A.; MANFROI, L. A **Embrapa Uva e Vinho**. Fermentação. Sistemas de Produção, 12. ISSN 1678-8761 Versão Eletrônica. Dez./2006. Disponível em: < <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinho/SistemaProducaoVinhoTinto/fermentacao.htm> >. Acesso em: 14/09/2015.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Correção do mosto da uva Isabel com diferentes produtos na Serra Gaúcha, **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 450-454, Santa Maria-RS, mar-abr.2005.

ROCHA, A. S. **Produção e avaliação físico-química da aguardente do fruto da palma forrageira (*Opuntia ficus – indica* Mill).** Dissertação. 2008. 110 p. Mestrado em Engenharia Agrícola. Universidade Federal de Campina Grande – PB.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Rotas bioquímicas e químicas para a formação de compostos voláteis em alimentos. In: FRANCO, M. R. B. **Aroma e sabor de alimentos:** temas atuais. São Paulo: Livraria Varela, 2003. p. 177-194.

ROSE, A. H. Alcoholic beverages. In: ROSE, A. H. **Economic microbiology.** Londres: Academic Press, 1977. v.1, 760 p.

ROSE, A. H.; HARRISON, J. S. **The Yeasts:** Yeast Technology. London: Academic Press, 1970.

ROSENBERGER, Bernard. A cozinha árabe e a sua contribuição à cozinha europeia. In: FLANDRIN, J. L.; MONTANARI, M. **História da Alimentação.** Trad. Luciano Vieira Machado; Guilherme J. F. Teixeira. 3. ed. São Paulo: Estação Liberdade, 1998, pp.338-358.

ROSSI, S. C. **Produção de aromas frutais por *Ceratocystis fimbriata* cultivado em resíduos e subprodutos da agroindústria:** cítrica, farelo de soja e melaço de cana como substratos da fermentação no estado sólido. 98p. Dissertação (Processos Biotecnológicos) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

SCHIMIDT, C. B. **A cultura prática da bananeira nanica no litoral norte paulista.** São Paulo: s. n., 1934.

SCHUTZ, H. G. Evolution of the sensory science discipline. **Food Technology**, v.52, n. 8, p. 42-46, 1998.

SCHWAN, R. F.; CASTRO, H. A. de. Fermentação. In: CARDOSO, M. das G.(Ed). **Produção de aguardente de cana-de-açúcar.** Lavras, MG: UFLA, 2001.p.113-26.

SEBRAE. Estudo de Mercado SEBRAE/ESPM – 2008. **Banana.** Relatório Completo. Disponível em: [http://201.2.114.147/bds/bds.nsf/8E2336FF6093AD96832574DC0045023C/\\$File/NT0003904A.pdf](http://201.2.114.147/bds/bds.nsf/8E2336FF6093AD96832574DC0045023C/$File/NT0003904A.pdf). Acesso em: 30/08/2014.

SERRA, S.; FUGANTI, C.; BRENNAN, E. Biocatalytic preparation of natural flavours and fragrances. **Trends in Biotechnology**, v. 23, n. 4, p. 193-198, 2005.

SHEFERD, R. Consumer attitudes and food acceptance. In: THOMSON, D. M. H. **Food acceptance.** New York: Elsevier, 1988. p. 253-266.

SILVA JÚNIOR, Z. P. S.; VIANA, L. F.; MUNHOZ, C. L.; RIBEIRO, G. F. A.; SILVA, F. C. Características físico-químicas da cachaça de abacaxi. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 20, 2006, Curitiba. **Anais...** Curitiba: SBCTA, 2006. 1 CD-ROM.

SILVA, C. L. C., ROSA, C. A., OLIVEIRA, E. S. Studies on the kinectic parameters for alcoholic fermentation by flocculant *Saccharomyces Cerevisiae* strains and non-hydrogen sulfide-producing strains. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.22, p. 857-863, 2006.

SILVA, E. F. **Obtenção de Aguardente de Banana em Micro - Escala:** Caracterização do Processo e do Produto. Dissertação, Mestrado em Ciência de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, 2004. 112p.

SILVA, M. B. L., CHAVES. B. P., LELIS, V. G., ALVARENGA, L. M., ZUIM, D. R., SILVA, P. H. A. Qualidade Físico Química e Sensorial de aguardentes de polpa de banana e banana integral submetidas à hidrólise enzimática. **Alim. Nutr.**, n. 20, v. 2, p. 217-221, 2009.

SILVA, S.O. *et al.* Cultivares. *In*: ALVES, E.J. (Org.). **A Cultura da banana:** Aspectos Técnicos, socioeconômicos e Agroindustriais. 2.ed.rev. Brasília:. Embrapa - SPI / Embrapa-CNPMF, 1999. p.85-105.

SOARES, M. **Metabólitos Frutais Produzidos por Pachysolen Tannophylus e Ceratocystis fimbriata em Fermentação no Estado Sólido Sobre Casca de café.** 91 p. Dissertação (Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1998.

SOMOGYI, M.; Notes on sugar determination. **Journal of Biological Chemistry**, n.195, p.19-23, 1952.

SOTO BALLESTERO, M. **Banana:** cultivo e comercialización. San José: Litografia y Imprensa, 1992. 674 p.

SOUZA, A. de; CONCEIÇÃO, O. A. da. **Fatores que afetam a qualidade da banana na agricultura familiar catarinense.** Florianópolis: Instituto Cepa/SC, 2002. 68p.

SOUZA, P. A. **Produção de aguardentes de cana-de-açúcar por dupla destilação em alambique retificador.** 2009. 99f. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 2009.

STONE, H.; McDERMOTT, B. J.; SIDEL, J. L. The importance of sensory analysis for the evaluation of quality. **Food Technology**, v. 45, n. 6, p. 88-95, 2004.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices.** New York: Academic Press, 1993.

STUPIELLO, J. P.; HORII, J. Condução da fermentação alcoólica. **Saccharum**, v. 17, p. 43-46, 1981.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**, 3. ed. Porto Alegre: Artmed , 2004. 719p.

THE GOOD SCENTS COMPANY (TGSC). **Odor Descriptors.** Disponível em: <<http://www.thegoodscentscopy.com/>>. Acesso em: 03/2012.

THE MERCK INDEX. 13th edition Hardcover, october 15, 2001.

THOMAZINI, M.; FRANCO, M. R. B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Boletim da sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, SBCTA**, Campinas,SP. v. 34, n. 1, p. 52-59, jan.-jun., 2000.

TRESSL, R. ; DRAWERTL, F. Biogenesis of banana volatiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.21, p.560–565, 1973.

TRESSL, R. ; JENNINGS, W. G. Production of volatile compounds in the ripening banana. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.20, p.460–465, 1972.

UMAMI INFORMATION CENTER. **O que é umami?** Disponível em: < <http://www.umamiinfo.com/2011/02/What-exactly-is-umami.php> >. Acesso em: 30/09/2015.

VALSECHI, O. **Aguardente de cana-de-açúcar**. 5 ed. Piracicaba,SP: Livroceres, 1990. 126 p.

VASCONCELOS, J. N. de. Influência da complementação de nutrientes nitrogenados e fosfatados sobre p processo de fermentação alcoólica industrial. **Brasil Açucareiro**. Rio de Janeiro, v.4, 5 e 6, n. 105, p. 41-48, 1987.

VILELA, P. S.; CASTRO, C. W.; AVELLAR, S. O. C. **Análise da oferta e da demanda de frutas selecionadas no Brasil** para o decênio 2006/2015. Disponível em: <http://www.faemg.org.br/>. Acesso em: 20/04/2014.

VILHALVA, D. A. A.; SOARES JÚNIOR, M. S.; FARIA, F. P. de; CASTIGLIONI, G. L.; CALIARI, M.; SILVA, F. A. Produção de aguardente a partir de resíduo de fecularia de mandioca. **Interciência**, v. 38, n. 11, p. 808-813, nov. 2013.

WELSH, F. W.; MURRAY, W. D.; WILLIAMS, R. E. Microbiological and enzymatic production of flavor and fragrance chemicals. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 9, n. 2, p. 105-169, 1995.

WYLLIE, S. G.; FELLMAN, J. K. Formation of volatile branched chain esters in bananas (*Musa sapientum* L.). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 8, p. 3493-3496, aug. 2000.

YOKOYA, F. **Fabricação da aguardente de cana**. Campinas-SP: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”. 1995. 87 p. (Série Fermentações Industriais, n. 2).

## ANEXO 1

**TABELA 1: Compostos Voláteis (aromas) detectados por *headspace* da banana com e sem casca e somente da casca. (mg/L de *headspace*).**

<b>VOLÁTEIS</b>	<b>T zero Banana sem casca (mg/L de <i>headspace</i>)</b>	<b>T zero Banana com casca (mg/L de <i>headspace</i>)</b>	<b>T zero Casca de banana (mg/L de <i>headspace</i>)</b>
metanol	0,3	0,2	0,5
acetaldeído - etanal	nd	nd	0,2
etanol	0,9	0,7	0,4
álcool-n-propílico	nd	0,3	nd
2,3-butanodiona	1,1	1,1	0,5
acetato de etila	0,3	0,8	0,7
2-metil-1-propanol	nd	nd	3,5
2 - pentanona	0,2	0,2	0,2
Acetato de propila	nd	nd	0,2
3-metil-1-butanol (álcool isoamílico)	nd	0,3	0,4
1-pentanol	1,3	0,2	0,7
2-hexanol	0,2	nd	nd
não identificado	0,7	0,7	0,6
acetato de isoamila	1,2	1,3	0,5
2-octanona	nd	0,3	0,9
hexanoato de etila	nd	1,0	0,6
não identificado	1,8	2,2	1,9
não identificado	1,3	0,8	0,7
octanoato de etila	0,4	0,5	0,4
1-decanol	0,3	0,6	0,4
ácido caprílico	0,2	0,2	0,2
decanoato de etila	0,3	0,3	0,3

---

nd = não detectado



**TABELA 2: AB-1 - Compostos voláteis identificados no *headspace* nas diferentes etapas do processo para obtenção de aguardente de banana em mosto banana com casca, fermentado por *Pichia* sp. Concentrações em mg/L de *headspace*.**

Voláteis	Tempo Zero	Fermentado	Filtrado	Dest. / Cabeça	Dest./Coração (Aguardente)	Cauda / Vinhaça
metanol	nd	0,5	0,9	1,1	nd	nd
acetaldeído - etanal	0,4	0,5	0,5	0,6	0,2	nd
etanol	1,6	14,8	70,6	0,2	413,5	2,7
acetato de etila	0,6	35,2	15,0	nd	76,5	nd
2 - pentanona	0,4	0,4	0,1	nd	2,9	nd
propylacetate	nd	0,2	0,2	nd	nd	nd
3-metil-1-butanol	0,2	0,2	0,3	nd	8,2	nd
acetato de isobutila	1,0	1,6	0,4	nd	2,2	nd
2-hexanol	nd	0,3	0,3	nd	0,7	nd
não identificado	0,7	0,6	0,4	nd	0,8	nd
acetato de isoamila	1,8	7,8	8,8	nd	13,5	nd
2-octanona	nd	0,6	1,1	nd	nd	nd
hexanoato de etila	nd	0,3	0,3	nd	0,8	nd
hexylacetate	0,2	0,3	0,2	nd	nd	0,2
não identificado	1,5	1,1	0,7	nd	0,5	nd
não identificado	0,5	0,3	0,2	nd	nd	nd
octanoato de etila	nd	0,2	0,3	nd	2,7	nd
1-decanol	nd	0,8	0,7	nd	nd	0,3
Ácido caprílico	nd	nd	0,3	nd	0,3	0,2
decanoato de etila	0,2	0,2	0,3	nd	0,6	0,3

---

nd = não detectado

**TABELA 3: AB-2 - Compostos voláteis identificados no *headspace* nas diferentes etapas do processo para obtenção de aguardente de banana em mosto banana sem casca, fermentado por CA-11. Concentrações em mg/L.**

Composto	Tempo Zero	Fermentado	Filtrado	Dest. / Cabeça	Dest./Coração (Aguardente)	Cauda / Vinhaça
metanol	0,4	2,0	1,7	1,2	0,5	nd
etanol	11,7	184,8	371,8	61,9	414,8	6,8
2,3-butanodiona	nd	nd	2,7	2,2	nd	nd
acetato de etila	0,5	0,4	2,0	nd	0,8	nd
2 - pentanona	0,8	0,3	0,5	nd	0,3	nd
3-metil-1-butanol	nd	nd	2,2	nd	1,7	nd
1-pentanol	1,7	nd	0,3	nd	nd	nd
2-hexanol	0,2	nd	0,2	nd	nd	nd
não identificado	2,0	0,4	0,4	nd	nd	nd
acetato de isoamila	1,3	0,7	0,7	nd	0,3	nd
2-octanona	0,3	0,0	nd	nd	nd	nd
2-octanol	0,3	0,0	nd	nd	nd	nd
hexanoato de etila	0,2	0,2	0,5	nd	nd	nd
não identificado	3,5	1,1	0,3	nd	0,1	0,2
não identificado	1,3	0,7	nd	nd	nd	nd
ácido caprílico	0,2	0,2	0,3	nd	0,3	0,3

nd = não detectado

**TABELA 4: AB-3 - Compostos voláteis identificados no *headspace* nas diferentes etapas do processo para obtenção de aguardente de banana em mosto com casca de banana, complementada com 14 % de sacarose, fermentado por *Pichia* sp.. Concentrações em mg/L de *headspace*.**

Composto	T zero	Fermentado	Dest. / Cabeça	Dest./Coração (Aguardente)	Cauda / Vinhaça
metanol	nd	3,3	1,4	1,9	nd
acetaldeído - etanal	nd	4,5	4,2	nd	nd
etanol	1,8	203,2	41,5	412,9	nd
acetato de etila	0,2	133,4	44,2	145,4	nd
ácido acético	nd	nd	nd	0,2	nd
n-butanol	0,2	0,6	nd	0,8	nd
2 - pentanona	nd	0,3	nd	0,9	nd
acetato de propila	0,4	nd	nd	nd	nd
3-metil-1-butanol	nd	1,2	nd	2,2	nd
acetato de isobutila	nd	0,2	nd	0,3	nd
n-butil acetato	nd	0,2	nd	0,3	nd
não identificado	nd	nd	nd	0,2	nd
acetato de isoamila	1,8	3,7	nd	5,7	nd
2-octanona	0,9	0,3	nd	0,5	nd
hexanoato de etila	0,6	0,2	nd	0,3	nd
não identificado	1,9	1,8	nd	0,3	nd
não identificado	0,7	0,4	nd	0,2	nd
octanoato de etila	0,4	0,4	nd	0,2	0,1
1-decanol	0,2	0,2	nd	nd	0,3
ácidocaprílico	0,3	0,4	nd	0,3	0,1
decanoato de etila	2,2	1,7	nd	0,2	1,7

nd = não detectado

**TABELA 5: AB-4 - AB-5 - AB-6 - AB-7 - Compostos voláteis identificados no *headspace* na obtenção das quatro aguardentes de banana com reaproveitamento de vinhaça compondo o mosto, fermentado por *Pichia* sp. e CA-11. Concentrações em mg/L.**

Composto	AB-4 Dest.A com vin.A	AB-5 Dest.A com vin.A + CA11	AB-6 Dest.CA11 com vin.A	AB-7 Dest.CA11 com vin.A + CA11
metanol	1,0	0,9	1,6	9,4
Etanol	413,7	413,6	413,9	413,7
álcool-n-propílico	nd	nd	0,2	0,7
2,3-butanodiona	nd	nd	3,5	3,8
acetato de etila	26,5	12,7	3,5	2,8
2-metil-1-propanol	9,1	4,4	nd	nd
n-butanol	1,2	nd	nd	0,5
2 - pentanona	0,5	0,4	nd	0,2
propylacetate	0,4	0,4	0,9	5,5
3-metil-1-butanol	0,6	0,5	1,5	3,3
1-pentanol	0,7	0,3	nd	0,4
Ácido butírico	nd	nd	0,4	nd
não identificado	0,3	0,2	nd	nd
acetato de isoamila	2,8	1,2	0,2	0,4
não identificado	nd	0,3	nd	0,3
não identificado	1,0	1,0	nd	nd
octanoato de etila	0,2	nd	nd	nd
1-decanol	nd	0,4	nd	0,4
ácido caprílico	0,6	0,4	0,4	0,2
decanoato de etila	0,2	0,1	0,1	nd

nd = não detectado

AB-4 - Aguardente da banana com casca e levedura *Pichia* sp. com reaproveitamento da vinhaça A compondo o mosto.

AB-5 - Aguardente da banana com casca e levedura *Pichia* sp. com reaproveitamento da vinhaça A + CA11 compondo o mosto.

AB-6 - Aguardente da banana sem casca e levedura CA11 com reaproveitamento da vinhaça A compondo o mosto.

AB-7 - Aguardente da banana sem casca e levedura CA11 com reaproveitamento da vinhaça A + CA11 compondo o mosto.

**TABELA 6: AB-8 - Compostos voláteis identificados no *headspace* na obtenção de aguardente de banana com casca, fermentado com a levedura *Pichia* sp. e reaproveitamento de vinhaça na diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração. Concentrações em mg/L de *headspace*.**

Composto	Dest./Coração (Aguardente)
metanol	3,1
etanol	413,5
álcool-n-propílico	0,5
acetato de etila	90,1
2 - pentanona	4,2
acetato de propila	1,8
3-metil-1-butanol	1,9
1-pentanol	0,7
acetato de isobutila	1,4
2-hexanol	0,3
não identificado	0,4
1-hexanol	0,4
acetato de isoamila	11,0
hexanoato de etila	1,5
não identificado	1,9
não identificado	0,2
1-decanol	0,2
ácido caprílico	0,2
decanoato de etila	0,4

nd = não detectado

**TABELA 7: AB-9 - Compostos voláteis identificados no *headspace* na aguardente de banana sem casca, fermentada com a levedura comercial CA-11 com reaproveitamento de vinhaça para diluição do fermentado para facilitar a destilação direta sem filtração. Concentrações em mg/L de headspace.**

Composto	Dest./Coração (Aguardente)
metanol	2,0
etanol	413,6
álcool-n-propílico	1,7
2,3-butanodiona	5,7
acetato de etila	3,3
2 - pentanona	0,2
acetato de propila	1,3
3-metil-1-butanol	1,4
acetato de isobutila	0,3
não identificado	0,2
acetato de isoamila	2,3
não identificado	0,3
octanoato de etila	0,3
1-decanol	0,4

nd = não detectado

**TABELA 8: AB-10 - Compostos voláteis identificados no *headspace* nas diferentes etapas do processo para obtenção de aguardente de banana, fermentado e filtrado de banana com casca e banana sem casca – vinho proveniente de duas diferentes leveduras. Concentrações em mg/L de *headspace*.**

Composto	Filtrado A	Filtrado CA11	Dest. / Cabeça	Dest./Coração (Aguardente)	Cauda
metanol	0,9	1,7	1,7	0,9	nd
acetaldeído - etanal	0,5	nd	nd	nd	nd
etanol	70,6	371,8	64,9	414,0	nd
álcool-n-propílico	nd	nd	nd	0,2	nd
2,3-butanodiona	nd	2,7	nd	0,4	nd
acetato de etila	15,0	2,0	14,0	1,2	nd
2 - pentanona	0,1	0,5	0,2	0,3	nd
acetato de propila	0,2	nd	nd	0,5	nd
3-metil-1-butanol	0,3	2,2	nd	0,7	nd
1-pentanol	nd	0,3	nd	0,2	nd
acetato de isobutila	0,4	nd	nd	0,8	nd
2-hexanol	0,3	0,2	nd	0,2	nd
ácido butírico	nd	nd	nd	0,2	nd
não identificado	0,4	0,4	nd	0,7	nd
acetato de isoamila	8,8	0,7	nd	5,6	nd
2-heptanona	0,2	nd	nd	nd	nd
2-octanona	1,1	nd	nd	nd	nd
hexanoato de etila	0,3	0,5	nd	0,3	nd
não identificado	0,7	0,3	nd	0,6	0,3
não identificado	0,2	nd	nd	nd	0,1
octanoato de etila	0,3	nd	nd	nd	0,3
1-decanol	0,7	nd	nd	0,3	0,3
ácido caprílico	0,3	0,3	nd	0,2	0,2
decanoato de etila	0,3	nd	nd	0,3	0,1

nd = não detectado

**TABELA 9: AB-11 - Compostos voláteis identificados no *headspace* nas diferentes etapas do processo para obtenção de aguardente de banana com casca fermentado por *Hanseniaspora* sp. Concentrações em mg/L de *headspace*.**

Composto	Tempo Zero	Ferm.	Filtrado	Dest./ Cabeça	Dest./Coração (Aguardente)	Cauda/ Vinhaça
metanol	nd	2,2	0,7	3,7	0,7	0,3
acetaldeído - etanal	0,4	nd	nd	nd	nd	nd
Etanol	1,6	322,2	311,0	137,8	413,4	5,0
acetato de etila	0,2	15,8	39,4	3,1	18,7	nd
ácido acético	nd	nd	1,9	nd	nd	nd
2 - pentanona	0,5	0,1	2,4	nd	0,8	nd
3-metil-1-butanol	0,2	0,4	0,3	nd	4,0	nd
acetato de isobutila	2,0	nd	0,2	nd	1,1	nd
2-hexanol	0,2	0,2	0,2	nd	0,6	nd
não identificado	1,2	0,4	nd	nd	0,6	nd
acetato de isoamila	2,7	1,2	1,0	nd	3,3	nd
2-octanona	0,5	0,0	0,2	nd	0,3	nd
acetato de hexila	0,2	0,3	nd	nd	0,3	nd
não identificado	1,2	0,8	0,2	nd	0,8	nd
não identificado	0,4	0,4	nd	nd	0,2	nd
1-decanol	nd	nd	0,2	nd	0,7	0,3
decanoato de etila	nd	nd	nd	nd	2,1	0,2

nd = não detectado



**TABELA 12: AB-12 - Compostos voláteis identificados no *headspace* nas diferentes etapas do processo para obtenção de aguardente de banana sem casca, fermentado por *S. cerevisiae*. Concentrações em mg/L de *headspace*.**

Composto	Tempo Zero	Fermentado	Dest. / Cabeça	Dest./Coração (Aguardente)	Cauda / Vinhaça
metanol	0,2	0,2	0,2	0,2	nd
acetaldeído - etanal	0,1	0,2	0,2	0,1	nd
Etanol	2,5	406,5	34,5	413,7	nd
acetato de etila	0,6	0,6	0,1	0,7	nd
2 - pentanona	0,4	0,4	nd	0,4	nd
3-metil-1-butanol	0,2	0,1	nd	1,3	nd
acetato de isobutila	0,7	0,8	nd	nd	nd
não identificado	0,9	nd	nd	nd	nd
acetato de isoamila	1,3	1,3	nd	1,3	nd
não identificado	2,3	2,2	nd	1,0	nd
não identificado	0,6	0,6	nd	0,3	0,1
decanoato de etila	1,0	1,0	nd	0,4	0,2

nd = não detectado

**TABELA 13: AB-13 - Compostos voláteis identificados no *headspace* nas diferentes etapas do processo para obtenção de aguardente de banana com casca, fermentado por *S. boulardii*. Concentrações em mg/L de *headspace*.**

Composto	Tempo Zero	Fermentado	Filtrado	Dest./Cabeça	Dest./Coração (Aguardente)	Cauda/Vinhaça
metanol	0,2	0,9	0,5	0,4	0,2	nd
acetaldeído - etanal	0,2	0,5	0,4	nd	0,2	nd
etanol	0,3	229,4	14,0	413,5	0,3	nd
acetato de etila	0,4	0,6	nd	0,8	0,4	nd
2 - pentanona	0,3	0,3	nd	0,3	0,3	nd
3-metil-1-butanol	0,2	0,8	nd	1,3	0,2	nd
acetato de isobutila	1,0	0,3	nd	0,3	1,0	nd
não identificado	0,8	0,6	nd	0,7	0,8	nd
acetato de isoamila	1,3	1,6	nd	2,8	1,3	nd
não identificado	2,2	1,4	nd	0,9	2,2	nd
não identificado	0,6	0,4	nd	0,3	0,6	0,1
decanoato de etila	1,0	0,6	nd	0,3	1,0	0,3

nd = não detectado

**TABELA 12: AB-14 - Compostos voláteis identificados no *headspace* nas diferentes etapas do processo para obtenção de aguardente de banana com casca, fermentado por *C. tropicalis*. Concentrações em mg/L de *headspace*.**

Composto	Tempo Zero	Fermentado	Dest./Cabeça	Dest./Coração (Aguardente)	Cauda / Vinhaça
metanol	0,3	0,9	0,3	0,1	nd
acetaldeído - etanal	0,2	1,7	2,1	0,2	nd
etanol	0,5	172,5	11,3	413,7	nd
2,3-butanodiona	nd	1,1	nd	0,9	nd
acetato de etila	0,5	0,6	nd	0,2	nd
2 - pentanona	0,6	0,6	nd	0,4	nd
3-metil-1-butanol	0,2	1,4	nd	1,3	nd
acetato de isobutila	1,3	1,0	nd	0,7	nd
2-hexanol	0,2	0,2	nd	nd	nd
não identificado	0,8	0,5	nd	0,6	nd
acetato de isoamila	1,4	2,3	nd	2,9	nd
2-octanona	0,2	nd	nd	0,2	nd
não identificado	2,3	nd	nd	1,4	0,2
não identificado	0,6	0,5	nd	0,1	0,3
decanoato de etila	1,0	0,5	nd	0,4	0,2

nd = não detectado

**TABELA 13: AB-15 - Compostos voláteis identificados no *headspace* nas diferentes etapas do processo para obtenção de aguardente de banana com casca, fermentado por *K. marcianus*. Concentrações em mg/L de *headspace*.**

Composto	Tempo Zero	Fermentado	Dest./ Cabeça	Dest./Coração (Aguardente)	Cauda/ Vinhaça
metanol	0,2	0,2	0,2	0,2	nd
acetaldeído - etanal	0,2	0,3	0,4	0,2	nd
etanol	0,6	239,0	8,4	413,5	nd
acetato de etila	0,5	0,5	nd	0,6	nd
2 - pentanona	0,4	0,4	nd	0,5	nd
3-metil-1-butanol	0,2	0,8	nd	1,3	nd
acetato de isobutila	0,7	0,7	nd	0,4	nd
não identificado	1,0	0,7	nd	0,4	nd
acetato de isoamila	1,3	2,1	nd	2,9	nd
não identificado	2,3	nd	nd	1,0	0,2
não identificado	0,6	nd	nd	0,2	0,1
decanoato de etila	1,0	nd	nd	0,3	0,2

nd = não detectado

## ANEXO 2



## Ultrazym® AFP L

**Valid From**
**2008-03-25**
**Product Characteristics:**

Declared Enzyme	Polygalacturonase Cellulase
Declared Activity	3000 PECTU/ml
Colour	Brown Colour can vary from batch to batch. Colour intensity is not an indication of enzyme activity.
Physical form	Liquid
Approximate Density (g/ml)	1.23
Stabilisers	Glycerol Potassium chloride Sodium chloride Sorbitol
Preservatives	Potassium sorbate
Odour	Slight fermentation odour
Solubility	Active component is readily soluble in water at all concentrations that occur in normal usage. Standardisation components can cause turbidity in solution.
Production organism	Aspergillus aculeatus Trichoderma reesei Aspergillus niger
Production Method	Produced by submerged fermentation of micro organisms. The enzyme protein is separated and purified from the production organisms.

**Product Specification:**

	Lower Limit	Upper Limit	Unit
Pectinase Unit PECTU	3000		/ml
Total Viable Count	-	50000	/g
Coliform Bacteria	-	30	/g
Enteropathogenic E.Coli	Not Detected		/25 g
Salmonella	Not Detected		/25 g

The product complies with the recommended purity specifications for food-grade enzymes given by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemical Codex (FCC).

**Packaging:** See the standard packaging list for more information.

**Recommended Storage:**

Best before	When stored as recommended, the product is best used within 18 months from date of delivery.
Storage at customer's warehouse	0-10°C (32°F-50°F)
Storage Conditions	In unbroken packaging - dry and protected from the sun. The product has been formulated for optimal stability. Extended storage or adverse conditions such as higher temperature or higher humidity may lead to a higher dosage requirement.

**Safety and Handling Precautions**

Enzymes are proteins. Inhalation of dust or aerosols may induce sensitization and may cause allergic reactions in sensitized individuals. Some enzymes may irritate the skin, eyes and mucous membranes upon prolonged contact. The product may create easily inhaled aerosols if splashed or vigorously stirred. Spilled product may dry out and create dust. Spilled material should be flushed away with water. Avoid splashing. Left over material may dry out and create dust. Wear suitable protective clothing, gloves and eye/face protection as prescribed on the warning label. Wash contaminated clothes. A Material Safety Data Sheet is supplied with all products. See the Safety Manual for further information regarding how to handle the product safely.

2 / 2

Novozymes A/S  
Krogshøjvej 36  
2880 Bagsvaerd  
Denmark

Tel. +45 4446 0000  
Fax +45 4446 9999

For more information, or  
for more office addresses,  
visit [www.novozymes.com](http://www.novozymes.com)

Laws, regulations and/or third party rights may prevent customers from importing, using, processing and/or reselling the products described herein in a given manner. Without separate, written agreement between the customer and Novozymes to such effect, this document does not constitute a representation or warranty of any kind and is subject to change without further notice.

© Novozymes A/S

## ANEXO 3



## Amylase™ AG XXL

**Valid From** 2007-07-04

**Características do produto:**

Enzima Declarada	Gluco-amilase
Atividade declarada	460 AGU/ml
Cor	marrom claro a escuro A cor pode variar de um lote para outro. A intensidade da cor não é um indicativo da atividade enzimática.
Apresentação	Líquido
Densidade de aproximadamente (g/ml)	1,15
Estabilizantes	D-glucose/sacarose
Conservantes	Sorbato de potássio Benzoato de sódio
Odor	Ligeiro odor de fermentação
Solubilidade	O componente ativo é facilmente solúvel em água em todas as concentrações que ocorrem em uso normal. Os Componentes utilizados para padronização podem causar turbidez na solução.
Organismo de produção	Aspergillus niger
Método de produção	Produzido através de fermentação submersa de microorganismo autoclonado de acordo com a definição europeia (maiores informações disponíveis mediante solicitação). A proteína enzimática é separada e purificada a partir do organismo produtor.

**Especificação do produto:**

	Limite Inferior	Limite Superior	Unidade
Amyloglucosidase Units AGU	460		/ml
Contagem total de viáveis	-	50000	/g
Bactéria Coliforme	-	30	/g
E.coli enteropatogênica	Não detectado		/25 g
Salmonella	Não detectado		/25 g

O produto está em conformidade com as especificações de pureza recomendadas para enzimas de grau alimentício definidas pelo Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) e o Food Chemicals Codex (FCC).

**Embalagem:** Para maiores informações veja a lista de embalagens.

**Armazenamento recomendado:**

Melhor utilizar antes de	Deve ser utilizado até a data que aparece no rótulo ou no Certificado de Análise (CoA)
Temperatura de armazenamento	0-10°C (32°F-50°F)
Condições de armazenamento	Em embalagem inviolada - seca e protegida do sol. O produto foi formulado para possuir ótima estabilidade. O armazenamento prolongado ou condições adversas como temperatura ou umidade elevadas, podem fazer com que sejam necessárias maiores dosagens do produto.

**Segurança e precauções de manuseio**

Enzimas são proteínas. A inalação de poeira ou aerossóis pode induzir sensibilização e causar reações alérgicas em pessoas sensibilizadas. Algumas enzimas irritam a pele, olhos e mucosas após contato prolongado. O produto pode criar aerossóis facilmente inaláveis se derramado ou agitado vigorosamente. Produtos derramados podem secar e criar poeira. Material derramado deve ser removido com água (Evite utilizar água sob alta pressão). Material residual pode secar e gerar poeira. Utilizar roupa de proteção adequada, luvas e proteção ocular/facial, conforme orientado na etiqueta de aviso. Lavar as roupas contaminadas. Uma ficha de segurança é fornecida com todos os produtos. Veja o manual de segurança para mais informações sobre como manusear o produto com segurança.

2 / 2

Novozymes Latin America Ltda.  
Rua professor Francisco Ribeiro 683  
CEP 83707-660 - Araucária - Paraná  
Brasil

Tel. +55 41 641 1000  
Fax +55 41 643 1443

Novozymes A/S  
Krogshoejvej 36  
2880 Bagsvaerd  
Denmark

Tel. +45 4446 0000  
Fax +45 4446 9999

Para mais informações, ou  
endereços de nossos  
escritórios, visite:  
[www.novozymes.com](http://www.novozymes.com)

A legislação, a regulamentação e/ou os direitos de terceiros podem impedir os clientes de importar, utilizar, processar e/ou revender os produtos aqui mencionados de determinada maneira. Sem um acordo em separado e por escrito entre o cliente e a Novozymes com essa finalidade, este documento não se constitui em uma representação ou garantia de qualquer espécie e está sujeito a alterações sem aviso prévio.

© Novozymes A/S